

repository.ub.ac.id

**ANALISIS JUMLAH FENOL DAN FLAVONOID DARI
EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum americanum* L.)
DENGAN *PRE-TREATMENT PULSED ELECTRIC FIELD*
(PEF)**

SKRIPSI

Oleh

SABRINAULY

NIM. 145100601111007



**JURUSAN KETEKNIKAN PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

repository.ub.ac.id

**ANALISIS JUMLAH FENOL DAN FLAVONOID DARI
EKSTRAK DAUN KEMANGI (*Ocimum americanum* L.)
DENGAN *PRE-TREATMENT PULSED ELECTRIC FIELD*
(PEF)**

Oleh
SABRINAULY
NIM. 145100601111007

**Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
gelar Sarjana Teknik**



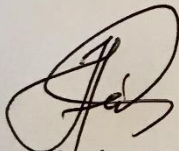
**JURUSAN KETEKNIKAN PERTANIAN
FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2018**

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul TA : Analisis Jumlah Fenol dan Flavonoid dari
Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum*
L.) dengan *Pre-Treatment Pulsed Electric Field*
(PEF)

Nama Mahasiswa : Sabrinauly
NIM : 145100601111007
Jurusan : Keteknikan Pertanian
Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing I,



Yusuf Hendrawan, STP, M.App.Life.Sc, Ph.D
NIP. 19810516 200312 1 002

Dosen Pembimbing II,



La Choviya Hawa, STP, MP, Ph.D
NIP. 19780307 200012 2 001

Tanggal Persetujuan:

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Judul TA : Analisis Jumlah Fenol dan Flavonoid dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dengan *Pre-Treatment Pulsed Electric Field* (PEF)

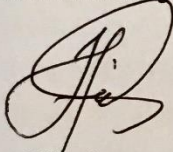
Nama Mahasiswa : Sabrinauly

NIM : 145100601111007

Jurusan : Keteknikan Pertanian

Fakultas : Teknologi Pertanian

Dosen Pembimbing I,



Yusuf Hendrawan, STP, M.App.Life.Sc, La Choviya Hawa, STP, MP, Ph.D
Ph.D

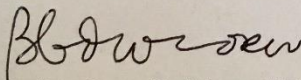
NIP. 19810516 200312 1 002

Dosen Pembimbing II,



NIP. 19780307 200012 2 001

Dosen Penguji I,



Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA
NIP. 19610710 198601 1 001

Ketua Jurusan,



La Choviya Hawa, STP, MP, Ph.D
NIP. 19780307 200012 2 001

Tanggal Lulus TA:

RIWAYAT HIDUP



Penulis lahir di kota Malang pada tanggal 24 Juni 1996. Penulis merupakan anak kedua dari ayah Drs. Sumadji, M.Pd dan ibu Srijati, S.Pd.

Penulis menyelesaikan pendidikan Sekolah Dasar di SDN Bandungrejosari 3 Malang pada tahun 2008, kemudian melanjutkan pendidikan di SMPN 8 Malang dengan tahun kelulusan 2011, dan menyelesaikan pendidikan Sekolah Menengah Atas di SMA Laboratorium UM Malang pada tahun 2014.

Pada tahun 2014, penulis diterima di program studi Teknologi Bioproses melalui Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri. Pada bulan Mei 2018, penulis berhasil menyelesaikan pendidikan Strata 1 di jurusan Keteknikan Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

HALAMAN PERUNTUKAN

*...To my beloved
father, mother, big sister, and grandmother...*

PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Sabrinauly
 N I M : 145100601111007
 Jurusan : Keteknikan Pertanian
 Fakultas : Teknologi Pertanian
 Judul TA : Analisis Jumlah Fenol dan Flavonoid
 dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum
 americanum* L.) dengan *Pre-
 Treatment Pulsed Electric Field* (PEF)

Menyatakan bahwa,

TA dengan judul di atas merupakan karya asli penulis tersebut di atas. Apabila di kemudian hari terbukti pernyataan ini tidak benar saya bersedia dituntut sesuai hukum yang berlaku.

Malang, 02 Juni 2018
 Pembuat Pernyataan,

Sabrinauly
 NIM 145100601111007

repository.ub.ac.id

SABRINAULY. 145100601111007. Analisis Jumlah Fenol dan Flavonoid dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dengan *Pre-Treatment Pulsed Electric Field* (PEF). TA. Pembimbing: Yusuf Hendrawan, STP, M.App.Life.Sc, Ph.D dan La Choviya Hawa, STP, MP, Ph.D

RINGKASAN

Daun kemangi merupakan tanaman yang banyak dimanfaatkan dalam bidang pengobatan untuk mengobati berbagai penyakit seperti diare, perut kembung, disentri, dan kerusakan ginjal. Beberapa penelitian terdahulu mengungkapkan bahwa ekstrak daun kemangi mengandung senyawa fenol dan flavonoid yang mampu berperan sebagai antimikroba dan antioksidan. Metode yang umum digunakan untuk mendapatkan senyawa tersebut adalah maserasi. Namun, maserasi dinilai masih memiliki kelemahan seperti rendahnya jumlah senyawa metabolit sekunder yang dapat terekstrak. Guna meningkatkan hasil ekstraksi senyawa metabolit sekunder, metode maserasi dapat dikombinasikan dengan teknologi *Pulsed Electric Field* (PEF) sebagai perlakuan pendahuluan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* terhadap jumlah senyawa fenol dan flavonoid dari ekstrak daun kemangi. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua variabel, yaitu kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm) dan durasi *pretreatment* (1, 2, dan 3 menit). Setiap kombinasi perlakuan diulang sebanyak tiga kali dan dihitung rata-ratanya. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa variasi kuat medan listrik, durasi *pretreatment*, dan interaksi kedua variabel tersebut berpengaruh signifikan terhadap jumlah fenol dan flavonoid yang dihasilkan. Berdasarkan data perhitungan, jumlah fenol dan flavonoid tertinggi diperoleh pada kombinasi perlakuan kuat medan listrik 3 kV/cm selama 2 menit, yaitu $115,203 \pm 1,115$ mg GAE/g ekstrak dan $75,816 \pm 0,723$ mg QE/g ekstrak. Ekstrak dengan *pretreatment* PEF juga menunjukkan jumlah fenol dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan kontrol.

Kata kunci: daun kemangi, fenol, flavonoid, *pulsed electric field*

repository.ub.ac.id

SABRINAULY. 145100601111007. Analysis of Total Phenols and Flavonoids of Basil Leaves (*Ocimum americanum* L.) Extract Using Pulsed Electric Field (PEF) as Pre-Treatment. Minor Thesis. Supervisor: Yusuf Hendrawan, STP, M.App.Life.Sc, Ph.D and La Choviya Hawa, STP, MP, Ph.D

SUMMARY

Basil leaf is one of the most well-known aromatic herb used for medicinal purposes to treat several diseases such as diarrhea, flatulence, nausea, dysentery, and kidney malfunction. Several previous scientific studies have revealed that basil leaf extract could act as an anti-microbial, antioxidant, anti-inflammatory, and cardiovascular agents. These actions are attributed to its composition, which is rich in phenol as well as flavonoids. So far, the common method to obtain both compounds is by conventional extraction method, namely maceration. However, maceration is considered to have weaknesses such as low yield of secondary metabolite compounds that can be extracted. In order to increase the extraction yield, the maceration method will be combined with Pulsed Electric Field (PEF) technology as pre-treatment. The aim of this study was to analyze the effect of electric field strength and pre-treatment time on the extraction of total phenol and flavonoid contents of basil leaves. This research used Randomized Block Design (RBD) with two variables, i.e electric field strength (2, 3, and 4 kV/cm) and pre-treatment time (1, 2, and 3 minutes). All the experiments were performed in triplicate and the results were averaged. Result of analysis of variance (ANOVA) showed that variation of electric field strength, pre-treatment time, and combination of both variables have significant effect on total phenol and flavonoid contents. The extract obtained using 3 kV/cm treatment for two minutes achieved the highest amounts of total phenols ($115,203 \pm 1.115$ mg GAE/g extract) and flavonoid contents (75.816 ± 0.723 mg QE/g extract). These treated samples also showed higher results compared to the untreated sample.

Keywords: basil leaves, flavonoid, phenolic, pulsed electric field

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala kesempatan, nikmat, dan karunia-Nya, sehingga penulis berhasil menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Analisis Jumlah Fenol dan Flavonoid dari Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) dengan *Pre-Treatment Pulsed Electric Field* (PEF)” dengan baik. Tugas akhir ini ditulis sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik. Pada kesempatan ini, penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. Bapak Yusuf Hendrawan, STP, M.App.Life.Sc, Ph.D selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan dan ilmu selama penelitian dan penulisan tugas akhir.
2. Ibu La Choviya Hawa, STP, MP, Ph.D selaku dosen pembimbing dan Ketua Jurusan Keteknikan Pertanian yang telah memberikan bimbingan dan ilmu selama penelitian dan penyusunan tugas akhir.
3. Bapak Dr. Ir. Bambang Dwi Argo, DEA selaku dosen penguji yang telah memberikan saran untuk tugas akhir ini.
4. Ayah dan Ibu yang senantiasa membantu memetik daun kemangi untuk penelitian, mengantar-jemput ke kampus setiap saat, memberikan motivasi, doa, dan dukungan baik moril maupun materi.
5. Mbak Mimi ‘Raehantimi, S.Pd’ dan nenek ‘emak’ yang selalu memberi semangat, motivasi, dan doa.
6. Ibu Kanti yang suka rela membantu mencari dan memetik daun kemangi setiap pagi buta.
7. Teman-teman senasib dan seperjuangan ‘wacana *group*’, Odilia, Retty, Dwi, Laras, Seruni, Liani, Rosyi, dan Resti atas bantuan dan dukungannya selama empat tahun ini.

8. Teman-teman Teknologi Bioproses 2014, khususnya kelas H atas dukungan dan kebersamaannya selama empat tahun perkuliahan.
9. Semua pihak yang terlibat dalam penyusunan tugas akhir ini.
Penulis menyadari bahwa dalam tugas akhir ini masih terdapat banyak kekurangan. Oleh karena itu, penulis menerima kritik dan saran yang membangun dari pembaca. Penulis berharap tugas akhir ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang teknologi bioproses.

Malang, Juni 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	Error! Bookmark not defined.
LEMBAR PENGESAHAN	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
HALAMAN PERUNTUKAN	v
PERNYATAAN KEASLIAN TUGAS AKHIR	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
KATA PENGANTAR	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Batasan Masalah	4
1.6 Hipotesis	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Daun Kemangi	5
2.2 Senyawa Metabolit Sekunder.....	8
2.3 Ekstraksi	11
2.4 <i>Pulsed Electric Field</i> (PEF).....	14
2.5 Penelitian Terdahulu	16
III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	19
3.3 Metode Penelitian	20
3.4 Pelaksanaan Penelitian	21

3.5	Parameter Pengamatan	24
3.6	Diagram Alir Penelitian	28
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	33
4.1	Pembuatan Serbuk Daun Kemangi	33
4.2	Proses Ekstraksi Daun Kemangi	36
4.3	Pengujian Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi.....	42
V.	PENUTUP	57
5.1	Kesimpulan	57
5.2	Saran	57
	DAFTAR PUSTAKA.....	59
	LAMPIRAN.....	65

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1	Kandungan Zat pada Daun Kemangi per 100 gram.....	7
2	Kombinasi Perlakuan Menggunakan PEF pada <i>Preteatment</i> Daun Kemangi.....	21

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1	Daun Kemangi.....	6
2	Struktur Kimia Senyawa Fenol.....	10
3	Struktur Kimia Flavonoid.....	10
4	<i>Pulsed Electric Field</i>	14
5	Mekanisme Elektroporasi pada Membran Sel	14
6	Bagian-Bagian Alat PEF Merk <i>Normex</i>	22
7	<i>Rotary Vacuum Evaporator</i> Merk <i>IKA</i>	24
8	Diagram Keseimbangan Massa pada Pembuatan Serbuk Daun Kemangi.....	26
9	Diagram Keseimbangan Massa pada Proses Ekstraksi Daun Kemangi.....	27
10	Diagram Alir Pembuatan Serbuk Daun Kemangi	28
11	Diagram Alir Proses Ekstraksi Daun Kemangi	30
12	Penurunan Kadar Air Daun Kemangi Layu pada Pengeringan Menggunakan Oven Suhu 50 °C.....	35
13	Diagram Keseimbangan Massa pada Proses Pembuatan Serbuk Daun Kemangi	36
14	Rendemen Ekstrak Daun Kemangi dengan Perlakuan PEF.....	39
15	Diagram Keseimbangan Massa pada Proses Ekstraksi Daun Kemangi (3 kV/cm selama 2 menit)	41
16	Kurva Standar Asam Galat	43
17	Reaksi Pembentukan Senyawa Kompleks Molibdenum-Tungsten.....	44

18	Kadar Total Fenol Ekstrak Daun Kemangi dengan Perlakuan Kuat Medan Listrik dan Durasi <i>Pretreatment</i> PEF	44
19	Perbandingan Kadar Total Fenol Ekstrak Daun Kemangi dengan Berbagai Perlakuan	48
20	Kurva Standar Kuersetin	50
21	Reaksi Pembentukan Senyawa Kompleks oleh Kuersetin dan Pereaksi Alumunium Klorida	51
22	Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi dengan Perlakuan Kuat Medan Listrik dan Durasi <i>Pretreatment</i> PEF	53
23	Perbandingan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi dengan Berbagai Perlakuan	55

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1	Prosedur Analisis Kadar Air Metode Gravimetri (AOAC, 1996 dalam Kumesan dkk., 2017)	65
2	Prosedur Analisis Kadar Total Fenol dengan Metode <i>Folin-Ciocalteu</i> (Modifikasi Lee <i>et al.</i> , 2003)	66
3	Prosedur Analisis Kadar Total Flavonoid dengan Metode Kolorimetri (Modifikasi Atanassova <i>et al.</i> , 2011)	68
4	Data Hasil Pengamatan Suhu Selama Proses Pengeringan Daun Kemangi.....	70
5	Data Pengukuran Suhu pada Proses Ekstraksi Daun Kemangi	71
6	Data Hasil Pengukuran Kadar Air Daun Kemangi Layu Selama Proses Pengeringan	72
7	Data Hasil Perhitungan Rendemen.....	74
8	Perhitungan Keseimbangan Massa	75
9	Kurva Standar Asam Galat dan Kuersetin	80
10	Data Hasil Analisis Total Fenol.....	81
11	Data Hasil Analisis Total Flavonoid.....	82
12	Perhitungan Tegangan <i>Output</i>	83
13	Spesifikasi Alat <i>Pulsed Electric Field</i> (PEF) Merk <i>Normex</i>	84
14	Spesifikasi <i>Rotary Vacuum Evaporator</i> Merk <i>IKA</i>	84
15	Spesifikasi Spektrofotometer UV-Vis Merk <i>Biochrom</i>	84
16	Data Analisis Sidik Ragam Rendemen ...	85

17	Data Analisis Sidik Ragam Kadar Total Fenol	89
18	Data Analisis Sidik Ragam Kadar Total Flavonoid.....	93
19	Dokumentasi Penelitian	97

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai salah satu dari 17 negara mega biodiversitas yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Sekitar 30.000 spesies tumbuhan tersebar di seluruh hutan Indonesia dan terdapat 9.600 diantaranya berpotensi sebagai obat herbal. Menurut *World Health Organization* (WHO), saat ini, sebanyak 80% populasi di dunia memanfaatkan ekstrak dari tumbuh-tumbuhan sebagai bahan obat alami (Palhares *et al.*, 2015). Pada umumnya, ekstrak senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai antioksidan alami. Beberapa senyawa metabolit sekunder tersebut adalah fenol dan flavonoid (Ervina, 2016; Saleh 2012).

Kemangi (*Ocimum americanum* L.) adalah salah satu tanaman serbaguna yang sangat berpotensi sebagai bahan baku obat-obatan. Tanaman ini juga dikenal dengan nama latin *Ocimum basilicum* L. (*Integrated Taxonomic Information System*, 2011) karena memiliki banyak bentuk (*polymorphic*), sehingga sering menyulitkan dalam bidang taksonomi. Kemangi termasuk tanaman yang mudah diperoleh dan dapat tumbuh secara liar maupun dibudidayakan. Bagian tanaman kemangi yang sering dimanfaatkan adalah daunnya. Selama ini, pemanfaatan daun kemangi di Indonesia hanya terfokus untuk konsumsi dalam keadaan segar (lalapan) maupun dicampurkan pada makanan seperti sayuran urap. Hal tersebut dipandang kurang praktis karena dosisnya yang tidak seragam. Selain itu, rasanya yang getir menyebabkan daun kemangi kurang digemari oleh sebagian orang, sehingga daun ini hanya disajikan sebagai pelengkap pada pangan tradisional. Padahal, daun kemangi segar diketahui mengandung senyawa fenol sebanyak $0,812 \pm 0,119$ mg GAE/g fw dan total flavonoid sebanyak $7,22 \pm 0,36$ mg/100 g (Andarwulan *et al.*, 2010). Pemanfaatan senyawa metabolit sekunder dalam daun kemangi dapat dioptimalkan melalui proses ekstraksi.

Maserasi adalah metode yang umum digunakan karena cara pengerjaannya relatif sederhana dan efektif untuk senyawa fenol dan flavonoid yang tidak tahan panas. Namun, metode ini memiliki

kelemahan seperti membutuhkan banyak pelarut, waktu ekstraksi yang lama, dan rendahnya kadar senyawa antioksidan yang diperoleh. Pada penelitian Mokoginta dkk. (2013) diperoleh rendemen sebesar 3,3% dari maserasi 30 g kulit biji pinang dengan pelarut metanol.

Rendemen yang rendah dari maserasi tersebut memerlukan suatu perlakuan pendahuluan (*pretreatment*). *Pretreatment* dapat dilakukan dengan metode termal (*thermal treatments*) dan penambahan bahan-bahan kimia atau enzim. Namun, kedua metode konvensional tersebut masih memiliki banyak kelemahan seperti terjadinya denaturasi membran sel akibat pemanasan, sehingga merusak sifat sensori (rasa, aroma, dan tekstur) dan nutrisi bahan, sedangkan *pretreatment* dengan penambahan bahan kimia atau enzim membutuhkan operasi yang besar untuk memisahkan residu dan enzim (Vito, 2006).

Sebagai alternatif dari metode konvensional yang telah disebutkan, *pretreatment* dapat dilakukan menggunakan *Pulsed Electric Field* (PEF). PEF merupakan metode pengolahan bahan pangan yang menerapkan kejutan listrik tegangan tinggi (kV/cm) dalam bentuk pulsa pendek (durasi pulsa antara μ s hingga ms). Kejutan listrik tegangan tinggi dapat menimbulkan tekanan berlebih, sehingga terjadi disintegrasi membran sel. Disintegrasi membran sel tersebut akan meningkatkan jumlah senyawa yang terkandung dalam sel untuk keluar dari jaringan tanaman. Berdasarkan penelitian Shobirin (2016) penerapan PEF menunjukkan adanya peningkatan rendemen sari buah apel. Pada kuat medan listrik 4 kV/cm selama 5 menit diperoleh rendemen sebesar 72,72%, kemudian meningkat menjadi 77,73% pada durasi perlakuan 10 menit. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Luengo *et al.* (2013) penggunaan PEF mampu meningkatkan kadar polifenol sebesar $14,14 \pm 1,52$, $26,92 \pm 8,51$, dan $29,81 \pm 9,31$ mg GAE/100 g kulit jeruk pada variasi kuat medan listrik 1, 3, dan 5 kV/cm, dibandingkan hasil perlakuan kontrol, yaitu $11,76 \pm 6,05$ mg GAE/100 g kulit jeruk. Bobinaite *et al.* (2017) juga melakukan penelitian terhadap jus ceri asam menggunakan PEF dengan variasi kuat medan listrik 1, 3, dan 5 kV/cm. Berdasarkan penelitian tersebut, diketahui bahwa teknologi PEF mampu meningkatkan kadar total fenol sebesar 12-19% dibandingkan sampel tanpa

perlakuan PEF. Perlakuan 5 kV/cm menghasilkan kadar fenol tertinggi, yaitu $133,90 \pm 2.67$ mg/100 ml jus.

Hasil dari penelitian terdahulu tersebut membuktikan bahwa peningkatan kadar senyawa aktif dipengaruhi oleh dua faktor utama, yaitu kuat medan listrik dan durasi PEF. Semakin lama durasi pemaparan, maka semakin besar pula kerusakan pada membran sitoplasma sel, sehingga terjadi pelebaran pori-pori yang bersifat *irreversible* atau tidak dapat kembali pada bentuk semula. Demikian pula, semakin tinggi kuat medan listrik yang diterapkan, maka ketahanan membran sel akan semakin berkurang dan menyebabkan membran sel pecah. Pecahnya membran sel tersebut mengakibatkan komponen dalam bahan ikut terlarut dengan mudah pada saat proses ekstraksi berlangsung. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan *pretreatment* menggunakan PEF dengan dua variabel, yaitu kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm) dan durasi *pretreatment* (1, 2, dan 3 menit).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh perbedaan kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* PEF terhadap kadar fenol ekstrak daun kemangi?
2. Bagaimana pengaruh perbedaan kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* PEF terhadap kadar flavonoid ekstrak daun kemangi?
3. Bagaimana keseimbangan massa bahan selama proses ekstraksi daun kemangi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menganalisis pengaruh perbedaan kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* PEF terhadap kadar fenol ekstrak daun kemangi.
2. Menganalisis pengaruh perbedaan kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* PEF terhadap kadar flavonoid ekstrak daun kemangi.
3. Menganalisis keseimbangan massa bahan selama proses ekstraksi daun kemangi.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai kandungan fenol dan flavonoid dari ekstrak daun kemangi.
2. Memberikan informasi mengenai alternatif pemanfaatan senyawa fenol dan flavonoid yang terkandung dalam daun kemangi.
3. Memberikan informasi mengenai pengaruh *pretreatment* menggunakan PEF terhadap kadar fenol dan flavonoid ekstrak daun kemangi.

1.5 Batasan Masalah

1. Penelitian ini dilakukan pada skala laboratorium.
2. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* PEF.
3. Parameter yang dianalisis adalah suhu, kadar air, rendemen, keseimbangan massa, kadar total fenol, dan kadar total flavonoid.
4. Tidak membahas pengaruh suhu dan lama waktu evaporasi terhadap kadar total fenol dan total flavonoid ekstrak daun kemangi.
5. Tidak menjelaskan analisis energi dan ekonomi.

1.6 Hipotesis

1. Kadar fenol dan flavonoid ekstrak daun kemangi mengalami peningkatan seiring dengan penambahan kuat medan listrik pada *pretreatment* PEF hingga pada titik optimum tertentu.
2. Kadar fenol dan flavonoid ekstrak daun kemangi mengalami peningkatan seiring dengan penambahan durasi *pretreatment* PEF hingga pada titik optimum tertentu.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Daun Kemangi

Tanaman kemangi adalah jenis tanaman aromatik dari famili *Lamiaceae* yang banyak dibudidayakan di berbagai negara, termasuk di Indonesia. Menurut Arifin (2016), tanaman kemangi berasal dari Asia Timur. Namun, beberapa sumber menyebutnya sebagai tanaman asli Eropa Tengah. Tanaman kemangi berkerabat dekat dengan selasih, daun *mint*, dan daun bangun-bangun. Tanaman ini bersifat *polymorphic* atau banyak bentuk sehingga sering menyulitkan dalam bidang taksonomi. Menurut *Integrated Taxonomic Information System* (2011), kemangi (*Ocimum americanum* L.) juga dikenal dengan nama latin *Ocimum basilicum* L. Adapun klasifikasi kemangi secara taksonomi sebagai berikut.

Kingdom : *Plantae*
Subkingdom : *Viridiplantae*
Infrakingdom : *Streptophyta*
Superdivision : *Embryophyta*
Division : *Tracheophyta*
Subdivision : *Spermatophytina*
Class : *Magnoliopsida*
Superorder : *Asteranae*
Order : *Lamiales*
Family : *Lamiaceae*
Genus : *Ocimum* L.
Species : *Ocimum americanum* L.

Kemangi dikenal dengan beberapa nama seperti kokuru (Manado), surawung (Jawa Barat), lampes (Jawa Tengah), *sweet basil* (Inggris). Tanaman kemangi dapat ditemukan di seluruh pulau Jawa pada ketinggian 450-1100 m di atas permukaan laut. Tanaman semak semusim ini tumbuh dengan baik di dataran rendah dan dataran tinggi, terutama yang bertanah asam serta dapat bertahan terhadap cuaca panas dan dingin. Di daerah tropis dan subtropis, kemangi tumbuh pada kisaran suhu 5-30 °C. Kenampakan daun kemangi dapat dilihat pada **Gambar 2.1**.



Gambar 2.1 Daun Kemangi

Berdasarkan karakteristik fisiknya, tanaman kemangi memiliki tinggi sekitar 30-150 cm dan terdiri dari lima bagian utama sebagai berikut (Depkes RI, 2001 *dalam* Aina, 2015).

1. Tanaman kemangi memiliki akar tunggang dengan warna putih kotor.
2. Batangnya berkayu dengan bentuk segi empat, beralur, bercabang, dan memiliki bulu berwarna hijau.
3. Bunga kemangi terdapat pada penghujung batang dengan panjang sekitar 5-7 mm. Kelopak bunga berbentuk bibir, berwarna ungu atau hijau. Mahkota bunga berwarna putih dengan benang sari tersisip di dasar mahkota, sedangkan kepala putik bercabang dua.
4. Daun kemangi berwarna hijau dan memiliki aroma khas. Bagian tepi daun bergerigi dengan ujung yang runcing, sedangkan pangkalnya tumpul. Menurut Kurniawati (2010), warna dan ukuran daun kemangi tergantung pada daerah penanamannya. Kemangi yang ditanam di daerah dingin memiliki daun yang lebih lebar dan berwarna lebih hijau, sedangkan di daerah panas daunnya kecil, tipis, dan berwarna pucat.
5. Buah tanaman kemangi berwarna coklat tua dengan ujung berbentuk kait melingkar dan terdiri dari empat biji kecil berwarna hitam. Kelopak bunga turut menyusun terbentuknya buah.

2.1.1 Kandungan Kimia dan Manfaat Daun Kemangi

Tanaman kemangi memiliki kandungan kimia yang tersebar pada bunga, daun, biji, dan batangnya.

Berdasarkan penelitian Delta (2014), kandungan flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak daun kemangi dibandingkan dengan ekstrak batang kemangi, yaitu 31,36 mg QE/g. Komposisi kimia daun kemangi per 100 gram ditunjukkan pada **Tabel 2.1**.

Tabel 2.1 Kandungan Zat pada Daun Kemangi per 100 gram

Komponen zat	Satuan	Jumlah
Air	g	92,06
Energi	kkal	23
Protein	g	3,15
Total lipid (lemak)	g	0,64
Karbohidrat	g	2,65
Kalsium (Ca)	mg	177
Besi (Fe)	mg	3,17
Magnesium (Mg)	mg	64
Kalium (K)	mg	295
Vitamin C	mg	18
Vitamin B-6	mg	0,155
Vitamin A, RAE	µg	264
Vitamin A, IU	IU	5275
Vitamin E (alfa-tokoferol)	mg	0,80

Sumber: USDA *National Nutrient Database for Standard Reference* (2016)

Kemangi termasuk dalam kelompok tanaman *indigenous*, yaitu tanaman lokal yang sudah dikultivasi dan dikonsumsi oleh masyarakat di suatu daerah, sehingga dianggap sebagai tanaman turun-temurun. Sayuran *indigenous* diketahui mengandung senyawa flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Andarwulan *et al.* (2010) daun kemangi segar mengandung senyawa fenol sebanyak $0,812 \pm 0,119$ mg

GAE/g fw dan total flavonoid sebanyak $7,22 \pm 0,36$ mg/100 g. Pada penelitian lain yang dilakukan oleh Batari (2007), daun kemangi memiliki kandungan flavonol dan flavon yang terdiri atas 2,12 mg luteolin, 1,89 mg kuersetin, 7,12 mg apigenin, dan kaempferol sebanyak 23,89 mg.

Menurut Mardiana dan Paimin (2012), selain senyawa fenol dan flavonoid, daun kemangi mengandung karvakrol, tanin, saponin, alkaloid, asam ursolat, dan minyak atsiri (sineol, eugenol, linalool, nerol, dan timol). Beberapa senyawa kimia lainnya, yaitu asam askorbat, beta-karoten, triptofan, steroid, xilose, asam galat, dan asam lemak seperti linoleat, linolenat, oleat, palmitat, asam stearat, dan glikosida. Daun kemangi diketahui memiliki beberapa efek farmakologi seperti antioksidan, antitumor, antimikotik, dan antibakteri. Ekstrak daun kemangi menunjukkan efek yang baik dalam menangkal serangan radikal bebas dan kehadiran bahan-bahan kimia bersifat karsinogenik serta mampu menurunkan kadar kolesterol. Adapun konsumsi kemangi secara signifikan dapat mengurangi risiko terkena neoplasia dan kanker hati (hepatoma).

2.2 Senyawa Metabolit Sekunder

Metabolit sekunder adalah senyawa bioaktif yang diproduksi dalam jumlah sedikit, tidak terus-menerus, dan bersifat tidak esensial (ketiadaannya tidak menyebabkan kematian) melalui jalur di luar biosintesis karbohidrat dan protein oleh tumbuhan tingkat tinggi, hewan, dan mikroorganisme. Senyawa ini berfungsi untuk menunjang kehidupan, mempertahankan diri dari serangan hama, penyakit, dan sinar UV. Selain itu, metabolit sekunder dalam tumbuhan seperti polifenol atau fenolik yang berupa flavonoid memiliki aktivitas farmakologi dan berpotensi sebagai sumber antioksidan alami (Saifudin, 2014).

Menurut Prabantini (2010) sumber antioksidan dibagi menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis dan antioksidan alami. Saat ini penggunaan antioksidan sintetis seperti BHT (*Butylated Hydroxy Toluene*) dan BHA (*Butylated Hydroxy Anisole*) mulai dibatasi karena dapat menimbulkan efek toksik, karsinogenik, dan mutagenik (Kaurinovic *et al.*, 2011). Oleh karena itu, banyak

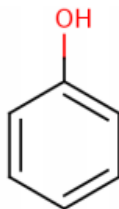
industri pangan dan obat yang beralih pada penggunaan antioksidan alami dari hasil ekstraksi tumbuh-tumbuhan. Namun, antioksidan alami memiliki struktur yang lebih kompleks, sulit disintesis, dan hanya sekitar 15% yang berhasil diisolasi, sehingga memiliki nilai ekonomi tinggi (Mariska, 2013). Senyawa kimia hasil metabolisme sekunder yang dimanfaatkan dalam industri pangan dan obat-obatan diklasifikasikan dalam beberapa golongan seperti flavonoid, glikosida, alkaloid, terpenoid, steroid, dan kumarin. Salah satu sumber antioksidan yang diketahui mengandung fenolik, flavonoid, steroid, dan saponin adalah tanaman kemangi (Batari, 2007).

2.2.1 Senyawa Fenol

Fenol (C_6H_5OH) atau asam karbolik adalah senyawa aromatik yang tersusun dari satu atau lebih gugus hidroksil (OH) yang terikat pada cincin benzena. Senyawa fenol diproduksi oleh tanaman melalui jalur sikimat dan metabolisme fenil propanoid sebagai respon terhadap berbagai kondisi seperti infeksi dan radiasi UV. Banyaknya variasi gugus yang tersubstitusi pada kerangka utama fenol menyebabkan kelompok fenolik memiliki banyak anggota, yaitu sekitar lebih dari 8.000 jenis senyawa. Golongan terbesar dari senyawa fenol adalah flavonoid dan tanin. Beberapa senyawa fenol telah diketahui fungsinya seperti lignin sebagai pembentuk dinding sel dan antosianin sebagai zat warna. Fenol diduga mempunyai aktivitas antioksidan dan dapat berperan sebagai antimikroba yang baik (Davidson, 1993 dalam Nuraini, 2007).

Fenol banyak ditemukan dalam bentuk kristal tidak berwarna dan memiliki aroma yang khas. Senyawa ini bersifat mudah teroksidasi, cenderung mudah larut dalam air karena berikatan dengan gula sebagai glikosida, dan hampir semua senyawa fenol mengalami kerusakan di atas suhu 85 °C dengan lama pemanasan lebih dari 5 menit. Menurut Apak *et al.* (2007), senyawa fenol dapat dibagi menjadi dua kelompok, yaitu fenol sederhana dan polifenol. Fenol sederhana adalah senyawa hasil substitusi satu atau dua gugus fenol dalam posisi orto, meta atau para seperti

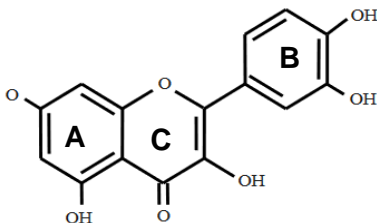
resorkinol dan floriglukinol, sedangkan polifenol adalah senyawa yang memiliki lebih dari satu gugus fenol dalam molekulnya. Contoh fenol sederhana dan polifenol adalah hidrokuinon dan melanin. Struktur kimia fenol dapat dilihat pada **Gambar 2.2**.



Gambar 2.2 Struktur Kimia Senyawa Fenol

2.2.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok senyawa metabolit sekunder yang paling banyak ditemukan pada akar, kayu, kulit, daun, bunga, buah, dan biji. Senyawa ini termasuk golongan fenolik yang memiliki 15 atom karbon. Flavonoid terdiri atas dua cincin benzena (C_6) yang dihubungkan dengan tiga satuan karbon atau rantai propana (C_3), sehingga membentuk struktur kimia $C_6-C_3-C_6$. Kerangka flavonoid terdiri atas satu cincin aromatik A, satu cincin aromatik B, dan cincin tengah (cincin C) berupa heterosiklik yang mengandung oksigen. Bentuk teroksidasi cincin ini dijadikan dasar pembagian flavonoid ke dalam enam sub kelompok, yaitu flavonol, flavon, isoflavon, flavanon, antosianin, dan flavanol (katekin dan proantosianin) (Redha, 2010). Struktur kimia flavonoid dapat dilihat pada **Gambar 2.3**.



Gambar 2.3 Struktur Kimia Flavonoid

Flavonoid bersifat relatif stabil terhadap panas, oksigen, dan kekeringan. Namun, senyawa ini dapat rusak karena cahaya. Flavonoid termasuk senyawa polar, sehingga larut dalam pelarut polar seperti etanol, dimetilformamida (DMF), dan air. Flavonoid yang gugus hidroksilnya berikatan dengan gula disebut flavonoid glikosida. Adanya gula yang terikat tersebut cenderung menyebabkan senyawa flavonoid lebih mudah larut dalam air maupun dalam campuran pelarut polar dengan air. Berbeda dengan hal tersebut, aglikon flavonoid adalah flavonoid yang tidak mengikat gugus gula dan bersifat kurang polar, sehingga cenderung lebih mudah larut dalam eter dan kloroform (Doloksaribu, 2009).

Senyawa flavonoid berperan memproduksi pigmen berwarna kuning, merah atau biru pada bunga serta mampu bekerja sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan satu elektronnya pada senyawa yang bersifat oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan tersebut bisa dihambat. Dalam beberapa penelitian, diketahui bahwa kekuatan aktivitas antioksidan senyawa flavonoid tergantung pada jumlah dan posisi dari gugus OH dalam molekulnya. Semakin banyak gugus OH dalam molekul flavonoid, maka aktivitas antiradikalnya semakin tinggi. Tingginya kapasitas antioksidan juga ditentukan oleh gugus orto-katekol pada cincin B-flavonoid (Indrawati & Razimin, 2013).

Saat ini, terdapat ribuan jenis flavonoid yang telah diidentifikasi dari tumbuhan. Kemangi merupakan salah satu tanaman yang mengandung senyawa flavonoid yang memiliki aktivitas sebagai agen pereduksi, donor hidrogen, dan penghilang oksigen tunggal. Jenis flavonoid yang terdapat dalam kemangi adalah glikosida flavonol.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut (*solvent*) yang sesuai. Proses ekstraksi dihentikan ketika kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman telah tercapai. Berdasarkan bentuk campurannya,

ekstraksi dapat dibagi menjadi dua macam sebagai berikut (Kristijarti & Arlene, 2012).

1. Ekstraksi padat-cair dapat terjadi jika substansi yang diekstraksi terdapat dalam campuran yang berbentuk padat. Operasi ekstraksi padat-cair dilakukan dalam dua tahap, yaitu kontak antara padatan yang mengandung sejumlah solut dengan pelarut murni, sehingga solut dapat berpindah ke pelarut dan pemisahan antara ekstrak dan rafinat.
2. Ekstraksi cair-cair dapat terjadi jika substansi yang diekstraksi terdapat di dalam campurannya yang berbentuk cair. Ekstraksi cair-cair banyak digunakan dalam pemurnian minyak, pembuatan vitamin dalam bidang farmasi, dan pengolahan limbah lingkungan.

2.3.1 Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Ekstraksi

Ekstraksi dipengaruhi oleh beberapa faktor sebagai berikut (Prasetyo dkk., 2012).

1. Ukuran bahan

Luas permukaan yang besar dapat dicapai dengan memperkecil ukuran bahan. Semakin luas permukaan padatan, maka perpindahan massa akan berlangsung lebih cepat. Namun, jumlah padatan berukuran kecil juga harus dibatasi, karena dapat menghalangi aliran pelarut untuk kontak dengan zat aktif dalam padatan tersebut.

2. Suhu operasi

Suhu operasi yang tinggi berpengaruh positif terhadap ekstraksi. Hal ini disebabkan adanya penurunan viskositas pelarut, sehingga kelarutan yang dicapai semakin besar. Suhu yang digunakan harus disesuaikan dengan kelarutan, stabilitas, dan selektivitas pelarut.

3. Waktu ekstraksi

Semakin lama waktu ekstraksi, maka semakin lama waktu kontak antara pelarut dan solut, sehingga perolehan ekstrak semakin besar. Namun, bila waktu yang digunakan terlalu lama, proses ekstraksi akan berlangsung tidak efisien.

4. Penyimpanan bahan baku

Bahan baku perlu disimpan pada tempat yang kering untuk menjaga kelembabannya, sehingga tidak merusak kualitas

hasil ekstraksi. Dengan pengeringan yang sempurna akan diperoleh ekstrak dengan kemurnian tinggi.

5. Pelarut

Pelarut dipilih berdasarkan kemampuannya dalam melarutkan jumlah maksimum dari zat aktif dan seminimum mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan. Kriteria pelarut dalam ekstraksi antara lain memiliki daya larut tinggi, dapat menarik zat aktif dari campuran, tidak menghasilkan senyawa beracun, dan dapat diuapkan.

6. Perbandingan pelarut dan bahan

Volume pelarut yang lebih besar akan mengekstrak zat dalam bahan lebih banyak. Namun, pemakaian pelarut yang berlebihan juga dapat menyebabkan banyak impuritas ikut terlarut. Pemilihan rasio yang kecil antara bahan dengan pelarut akan menghasilkan kadar pigmen terekstrak yang rendah karena semakin rendah volume pelarut, maka hanya sedikit pelarut saja yang mampu mengikat zat terlarut.

2.3.2 Metode Ekstraksi

Menurut Chandra (2015) metode ekstraksi berdasarkan ada tidaknya proses pemanasan dapat dibagi menjadi dua, yaitu ekstraksi dingin dan ekstraksi panas. Ekstraksi dingin merupakan proses ekstraksi tanpa adanya pemanasan dengan tujuan agar senyawa yang diinginkan tidak rusak. Berikut beberapa jenis metode ekstraksi dingin.

1. Maserasi atau dispersi adalah metode ekstraksi padat-cair. Metode ini menggunakan pelarut diam dengan adanya pengadukan beberapa kali pada suhu ruang. Metode maserasi efektif untuk senyawa yang tidak tahan panas.
2. Perkolasi adalah metode ekstraksi yang dilakukan dengan merendam bahan dalam pelarut. Kemudian pelarut baru dialirkan secara terus menerus hingga pelarut tidak berwarna yang artinya tidak ada lagi senyawa yang terlarut. Kelebihan metode ini adalah tidak diperlukan proses tambahan untuk memisahkan padatan dengan ekstrak.

Ekstraksi panas adalah metode yang melibatkan pemanasan selama proses berlangsung. Adanya energi panas akan mempercepat proses ekstraksi dibandingkan dengan

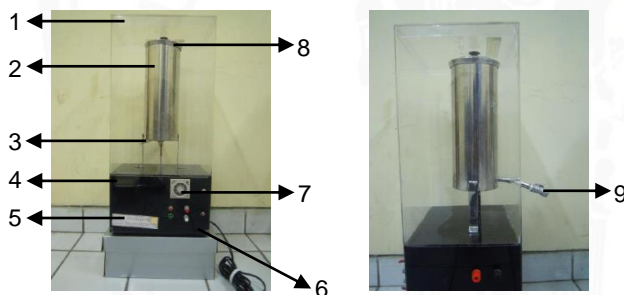
metode ekstraksi dingin. Berikut jenis metode ekstraksi panas.

1. Refluks adalah metode ekstraksi yang dilakukan pada titik didih pelarut yang digunakan dengan adanya pendingin balik (kondensor). Metode refluks baik untuk padatan yang bertekstur kasar dan tahan panas.
2. Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru. Kelebihan soxhletasi, yaitu prosesnya berlangsung *continue* dan waktunya lebih singkat. Namun, pemanasan berlanjut dapat menyebabkan rusaknya komponen lain yang tidak tahan panas.

2.4 Pulsed Electric Field (PEF)

2.4.1 Pengertian PEF

PEF merupakan salah satu metode non termal yang digunakan untuk mengolah bahan pangan dalam bentuk semi-padat atau cair. Metode non termal bertujuan mengawetkan bahan pada suhu yang rendah untuk menghindari dampak yang ditimbulkan dari panas, sehingga kualitas sensori dan gizi suatu bahan dapat dipertahankan. Alat PEF terdiri dari tiga komponen utama, yaitu pembangkit pulsa tegangan tinggi, tangki bahan (*treatment chamber*) sebagai ruang perlakuan, dan kerangka *box*. Secara umum, pembangkit pulsa tegangan tinggi terdiri atas rangkaian penyearah, rangkaian pembangkit pulsa (*oscillator*), dan rangkaian kemudi (*driver*) (Andriawan & Susilo, 2015). Alat PEF beserta keterangannya dapat dilihat pada **Gambar 2.4**.



Gambar 2.4 Pulsed Electric Field (Setiawan dkk., 2014)

Keterangan:

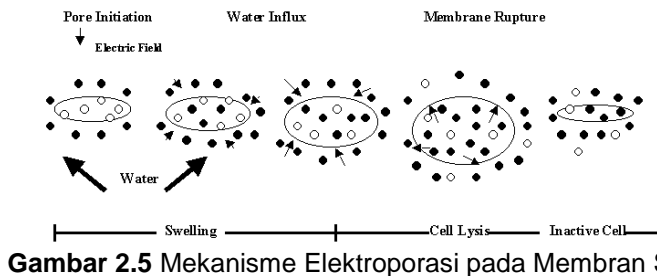
- | | |
|---|-----------------------|
| 1. Isolator | 5. Box rangkaian |
| 2. <i>Treatment chamber</i> | 6. Pengatur tegangan |
| 3. Anoda | 8. <i>Timer</i> |
| 4. <i>Display</i> tegangan <i>input</i> | 9. Kran <i>output</i> |

2.4.2 Mekanisme Kerja PEF

Prinsip dasar proses PEF adalah sejumlah energi yang berasal dari *power supply* DC dialirkan melewati *charging* resistor dan disimpan dalam satu seri kapasitor yang mengubah energi tersebut menjadi pulsa bertegangan tinggi. Ketika *switch* terhubung, pulsa bertegangan tinggi yang dihasilkan akan diterapkan pada elektroda. Selanjutnya, elektroda mengalirkan pulsa listrik berintensitas tinggi pada bahan pangan yang ditempatkan di antara dua elektroda. Bahan pangan tersebut akan mengalami gaya per satuan muatan disebut medan listrik yang bertanggung jawab atas kerusakan membran sel (Mohamed & Eisa, 2012).

Pemaparan sel biologis pada medan listrik tegangan tinggi (kV/cm) dalam bentuk pulsa yang sangat pendek ($\mu\text{s/ms}$) akan menimbulkan tekanan berlebih pada membran sel, sehingga ketebalannya menurun. Hal tersebut menginduksi pembentukan pori-pori yang bersifat sementara (*reversible*) atau permanen (*irreversible*) pada membran sel. Fenomena tersebut dinamakan elektroporasi. Elektroporasi menentukan peningkatan permeabilitas karena terbentuknya saluran atau pori-pori baru pada membran sel, sedangkan pembentukan pori-pori sementara atau permanen ditentukan oleh beberapa faktor seperti kuat medan listrik, jumlah dan durasi pulsa yang diterapkan. Pada kerusakan sementara (*reversible breakdown*), pori-pori berukuran kecil yang terbentuk akan tertutup kembali saat medan listrik dihentikan, sedangkan pada kerusakan permanen (*irreversible breakdown*), membran sel mengalami kerusakan yang menyebabkan kematian sel (lisis). Disintegrasi membran sel pada jaringan tumbuhan tersebut menyebabkan peningkatan arus perpindahan senyawa

metabolit sekunder dari dalam sel menuju media eksternal (Vito, 2006). Mekanisme elektroporasi pada membran sel dapat dilihat pada **Gambar 2.5**.



Gambar 2.5 Mekanisme Elektroporasi pada Membran Sel

Ketika sebuah sel terpapar oleh medan listrik, muatan yang ada di permukaan membran saling tarik menarik satu sama lain karena adanya perbedaan muatan, yaitu positif (+) dan negatif (-) yang disebabkan oleh tekanan, sehingga terjadi penurunan ketebalan selaput membran. Penurunan ketebalan selaput membran akan membentuk pori-pori yang lebih besar (Shamsi & Sherkat, 2009). Menurut Siemer *et al.* (2012) *pretreatment* dengan PEF merupakan alternatif dalam meningkatkan laju difusi produk keluar dari jaringan tanaman pada saat ekstraksi. PEF dapat menginduksi disintegrasi membran sel dari jaringan tumbuhan, sehingga rendemen dan aktivitas antioksidan meningkat. Kejut listrik menyebabkan terjadinya modifikasi permukaan sel, dimana ditemukan adanya lubang pada dinding sel, sedangkan pada sel yang tidak dialiri listrik tidak ditemui hal tersebut.

2.5 Penelitian Terdahulu

Nurhaeni dkk. (2014) melakukan ekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% terhadap berbagai jenis sayuran termasuk daun kemangi dengan metode maserasi. Sebanyak 50 gram simplisia kering dimaserasi selama 24 jam dan pada ampasnya dilakukan remaserasi sebanyak dua kali dengan cara yang sama. Filtrat yang diperoleh, digabungkan menjadi satu dan diuapkan hingga diperoleh ekstrak etanol kental. Setelah dilakukan

pengujian, kandungan fenolik dan flavonoid dari ekstrak daun kemangi secara berturut-turut, yaitu 12,24 % b/b EAG dan 48,62 % b/b ER. Kedua kandungan tersebut berkorelasi positif terhadap aktivitas antioksidan.

Stiani dkk. (2015) melakukan ekstraksi daun kemangi dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Daun kemangi dikeringkan dalam oven dengan suhu 50 °C selama 8 jam dan diperoleh serbuk sebanyak 280 gram. Proses evaporasi menghasilkan berat ekstrak kental sebanyak 117,84 gram, kemudian dilakukan uji organoleptis, uji daya sebar, uji daya lekat, dan uji proteksi untuk dimanfaatkan sebagai sediaan salep.

Ghasemzadeh *et al.* (2016) melakukan penelitian yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas farmasi dan kandungan fitokimia daun kemangi. Penelitian ini memanfaatkan sinar UV-B dengan intensitas dan durasi penyinaran yang berbeda, yaitu 2,30, 3,60, dan 4,80 W/m² selama 4, 6, 8, dan 10 jam sebagai *pretreatment* pada proses ekstraksi daun kemangi. Ekstrak yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui absorbansi total fenol dan total flavonoid. Berdasarkan penelitian tersebut, dapat disimpulkan bahwa radiasi UV-B dengan intensitas 3,60 W/m² selama 8 jam merupakan perlakuan paling efektif dalam meningkatkan kuantitas metabolit sekunder pada daun kemangi karena mampu menghasilkan kadar total fenol dan flavonoid tertinggi, yaitu 55,79±2,31 mg GAE/g dan 41,19±1,46 mg QE/g.





III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Teknik Pengolahan Pangan dan Hasil Pertanian (TPPHP) Jurusan Keteknikan Pertanian, Laboratorium Bioindustri Jurusan Teknologi Industri Pertanian, dan Laboratorium Kimia Dasar, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang. Penelitian berlangsung pada bulan Januari 2018 hingga Maret 2018.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Berikut peralatan yang digunakan dalam penelitian ini.

1. PEF (*Pulsed Electric Field*) merk *Normex* sebagai sumber kejut listrik untuk *pretreatment* bahan.
2. *Rotary vacuum evaporator* merk *IKA* untuk memisahkan bahan dari pelarut.
3. Spektrofotometer UV-Vis merk *Biochrom Libra S12* untuk mengukur absorbansi sampel.
4. Oven merk *Binder Red Line* untuk mengeringkan daun kemangi.
5. Blender untuk memperkecil ukuran daun kemangi kering.
6. Ayakan 40 mesh untuk menyeragamkan ukuran serbuk daun kemangi.
7. Timbangan analitik untuk mengukur massa bahan.
8. *Glassware* sebagai wadah sampel untuk pengujian.
9. Botol kaca gelap sebagai wadah maserasi.
10. *Vortex* untuk menghomogenkan sampel.
11. Lemari pendingin untuk menyimpan serbuk daun kemangi dan filtrat hingga dilakukan pengujian.

3.2.2 Bahan

Berikut bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan ekstrak daun kemangi.

1. Daun kemangi sebagai bahan perlakuan diperoleh dari desa Banjarejo, Tumpang, Kabupaten Malang. Tanaman kemangi dipetik ± 60 hari setelah tanam dan bagian yang digunakan adalah daun yang segar, berwarna hijau, dan tidak busuk.
2. Aquades sebagai pelarut diperoleh dari Panadia *Laboratory*, Kecamatan Blimbing, Kota Malang.
3. Alumunium *foil* dan lakban hitam untuk melapisi gelas *beaker* dan botol kaca gelap.
4. Kertas saring halus untuk memisahkan filtrat dan residu setelah proses maserasi.

Bahan-bahan kimia yang digunakan untuk analisis fenol dan flavonoid diperoleh dari Panadia *Laboratory*, Kota Malang sebagai berikut.

1. Asam galat digunakan dalam pembuatan kurva standar untuk analisis total fenol.
2. Natrium karbonat (Na_2CO_3) untuk analisis total fenol.
3. *Folin-Ciocalteu* untuk analisis total fenol.
4. Kuersetin digunakan dalam pembuatan kurva standar untuk analisis total flavonoid.
5. Etanol pro-analisis digunakan dalam pembuatan kurva standar untuk analisis total flavonoid.
6. Alumunium klorida (AlCl_3) untuk analisis total flavonoid.
7. Natrium nitrit (NaNO_2) untuk analisis total flavonoid.
8. Natrium hidroksida (NaOH) untuk analisis total flavonoid.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan dua faktor. Faktor pertama adalah kuat medan listrik yang terdiri atas tiga level, yaitu 2, 3, dan 4 kV/cm, sedangkan faktor kedua adalah durasi *pretreatment* yang terdiri dari tiga level, yaitu 1, 2, dan 3 menit. Masing-masing kombinasi perlakuan dari kedua faktor tersebut diulang sebanyak tiga kali, sehingga diperoleh total perlakuan 27 sampel ditambah tiga sampel sebagai kontrol. Kombinasi perlakuan menggunakan PEF pada *pretreatment* daun kemangi dapat dilihat pada **Tabel 3.1**.

Tabel 3.1 Kombinasi Perlakuan Menggunakan PEF pada *Pretreatment* Daun Kemangi

Kuat Medan Listrik (E)	Durasi (T)		
	T1 (1 menit)	T2 (2 menit)	T3 (3 menit)
E1 (2 kV/cm)	E1T1	E1T2	E1T3
E2 (3 kV/cm)	E2T1	E2T2	E2T3
E3 (4 kV/cm)	E3T1	E3T2	E3T3

Keterangan:

E1T1 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 2 kV/cm selama 1 menit

E1T2 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 2 kV/cm selama 2 menit

E1T3 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 2 kV/cm selama 3 menit

E2T1 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 3 kV/cm selama 1 menit

E2T2 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 3 kV/cm selama 2 menit

E2T3 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 3 kV/cm selama 3 menit

E3T1 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 4 kV/cm selama 1 menit

E3T2 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 4 kV/cm selama 2 menit

E3T3 = *Pretreatment* dengan kuat medan listrik 4 kV/cm selama 3 menit

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Serbuk Daun Kemangi

1. Preparasi Sampel Daun Kemangi

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun kemangi. Sebelum memasuki proses pengeringan, daun kemangi dipilih yang kondisinya segar, berwarna hijau, dan tidak busuk. Selanjutnya, daun kemangi dibersihkan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang melekat.

2. Proses Pengeringan Daun Kemangi

Daun kemangi dilayukan dengan cara diangin-anginkan selama 24 jam, kemudian dilanjutkan dengan pengeringan menggunakan oven pada suhu 50 °C selama 8 jam. Daun kemangi kering dihancurkan menggunakan blender hingga diperoleh serbuk, lalu diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk mendapatkan derajat kehalusan yang sama.

3. Penyimpanan Serbuk Daun Kemangi

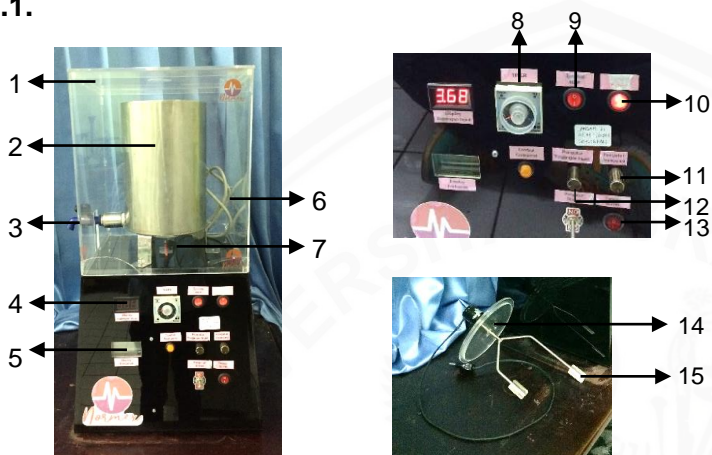
Serbuk daun kemangi yang diperoleh dari proses pengeringan disimpan dalam plastik kedap udara dengan

ketebalan 0,1 mm. Plastik tersebut dilengkapi dengan keterangan yang menunjukkan berat serbuk dan urutan waktu pengeringan dilakukan. Serbuk daun kemangi disimpan dalam lemari pendingin pada suhu $\pm 5^\circ\text{C}$ berdasarkan pada metode *First In – First Out* (FIFO).

3.4.2 Proses Ekstraksi Daun Kemangi

1. *Pretreatment* Menggunakan PEF

Serbuk daun kemangi sebanyak 20 gram dan 300 ml aquades ditempatkan ke dalam gelas *beaker*, lalu dihomogenkan menggunakan spatula. Campuran daun kemangi-aquades dimasukkan ke dalam *treatment chamber*. Bagian-bagian alat PEF *Normex* dapat dilihat pada **Gambar 3.1**.



Keterangan:

- | | |
|---|------------------------------------|
| 1. Isolator | 9. Tombol HEP |
| 2. <i>Treatment chamber</i> | 10. Tombol <i>power</i> |
| 3. Kran <i>output</i> | 11. Pengatur frekuensi |
| 4. <i>Display</i> tegangan <i>input</i> | 12. Pengatur tegangan <i>input</i> |
| 5. <i>Display</i> frekuensi | 13. Tombol <i>stirrer</i> |
| 6. Kabel penghubung | 14. Tutup <i>treatment chamber</i> |
| 7. Elektroda | 15. <i>Stirrer</i> |
| 8. <i>Timer</i> | |

Gambar 3.1 Bagian-Bagian Alat PEF Merk *Normex*

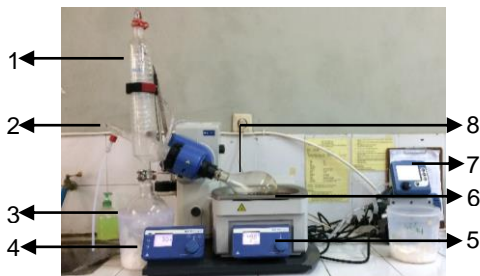
Alat PEF dihubungkan ke sumber listrik dan tombol *power* dinyalakan untuk memulai *pretreatment*. Tegangan *input* dan durasi *pretreatment* diatur sesuai dengan masing-masing kombinasi perlakuan, kemudian tombol HEP dinyalakan. Pada kuat medan listrik 2, 3, dan 4 kV/cm diperlukan tegangan *input* sebesar 3,68, 3,93, dan 5,12 V secara berurutan. Tegangan *output* yang dihasilkan dari kuat medan listrik 2, 3, dan 4 kV/cm secara berturut-turut adalah 12, 18, dan 24 kV. Perhitungan tegangan *output* dapat dilihat pada **Lampiran 12**. Campuran serbuk daun kemangi-aquades yang keluar melalui kran *output*, ditampung dalam gelas *beaker* yang telah dilapisi alumunium *foil*, sedangkan ampas yang tertinggal di dalam *treatment chamber* diambil menggunakan spatula untuk ditambahkan ke dalam gelas *beaker*. Adapun spesifikasi alat PEF *Normex* dapat dilihat pada **Lampiran 13**.

2. Proses Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Sampel perlakuan PEF dan sampel perlakuan kontrol (tanpa perlakuan PEF) ditempatkan dalam botol kaca gelap yang sudah dilapisi lakban hitam untuk diekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi berlangsung selama tiga jam pada suhu ruang dan terhindar dari sinar matahari langsung. Selama maserasi berlangsung, botol maserasi digoyang-goyangkan secara manual setiap 30 menit. Hasil ekstraksi disaring dua kali menggunakan kertas saring halus yang diletakkan pada corong kaca untuk memisahkan filtrat dan residu. Filtrat ditampung dalam botol kaca gelap dan disimpan dalam lemari pendingin pada suhu $\pm 5^{\circ}\text{C}$.

3. Evaporasi Menggunakan Rotary Vacuum Evaporator

Filtrat yang diperoleh dari proses penyaringan sebelumnya dipekatkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada tekanan vakum. Alat *rotary vacuum evaporator* merk *IKA* beserta keterangannya dapat dilihat pada **Gambar 3.2**.



Keterangan:

- | | |
|-----------------------------------|---|
| 1. Kondensor | 5. Kontrol panel suhu |
| 2. Lubang kondensor | <i>water bath</i> |
| 3. Labu penampung pelarut | 6. <i>Water bath</i> |
| 4. Pengatur kecepatan putar rotor | 7. Pompa vakum |
| | 8. Labu evaporasi (<i>rotary flask</i>) |

Gambar 3.2 *Rotary Vacuum Evaporator* Merk *IKA*

Labu penampung pelarut dipasang pada tempatnya terlebih dahulu, kemudian sampel dimasukkan ke dalam labu evaporasi dan suhu *water bath* diatur pada 50 °C. Setelah suhunya mencapai 50 °C, labu evaporasi diatur ketinggiannya hingga sampel terendam aquades dalam *water bath* dan diatur kecepatan putarnya menjadi 60 rpm, lalu pompa vakum dinyalakan. Evaporasi berlangsung selama ± 37 menit hingga diperoleh ekstrak pekat. Ekstrak pekat tersebut ditempatkan dalam botol gelap yang telah dilapisi lakban hitam untuk mencegah terjadinya degradasi senyawa aktif akibat paparan cahaya sebelum dilakukan analisis. Adapun spesifikasi alat *rotary vacuum evaporator* merk *IKA* dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

3.5 Parameter Pengamatan

3.5.1 Suhu

Pengamatan dan pengukuran suhu dilakukan pada beberapa proses berikut.

1. Pengamatan suhu pada *display* sebelum oven mencapai suhu 50 °C.

2. Pengamatan suhu pada *display* oven setiap 15 menit untuk mengetahui tren suhu selama pengeringan.
3. Pengukuran suhu menggunakan termometer untuk mengetahui perubahan suhu pada sampel sebelum dan sesudah *pretreatment* PEF.
4. Pengukuran suhu menggunakan termometer untuk mengetahui perubahan suhu pada sampel sebelum dan setelah maserasi.

3.5.2 Kadar Air

Analisis kadar air simplisia dilakukan berdasarkan metode gravimetri dengan menggunakan oven. Pengukuran kadar air simplisia berlangsung hingga diperoleh berat konstan. Prosedur pengukuran kadar air daun kemangi yang telah dilakukan dapat dilihat pada **Lampiran 1**.

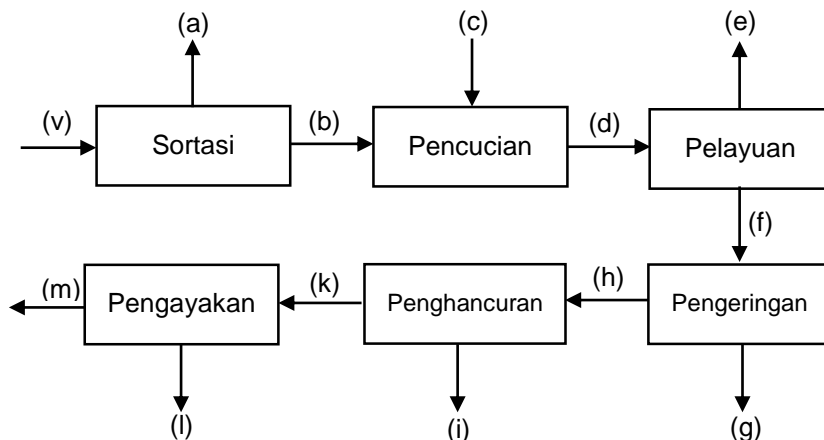
3.5.3 Rendemen Ekstrak

Rendemen ekstrak dihitung dengan membandingkan berat ekstrak dari proses evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* dengan berat awal simplisia. Rendemen ekstrak ditentukan berdasarkan persamaan berikut.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat awal simplisia}} \times 100\%$$

3.5.4 Keseimbangan Massa

Perhitungan keseimbangan massa dimulai dari proses sortasi daun kemangi hingga diperoleh ekstrak pekat. Tujuannya untuk mengetahui material yang masuk dan keluar serta adanya peningkatan atau penurunan massa pada setiap tahap pengolahan. Diagram keseimbangan massa pada pembuatan serbuk daun kemangi dapat dilihat pada **Gambar 3.3**.

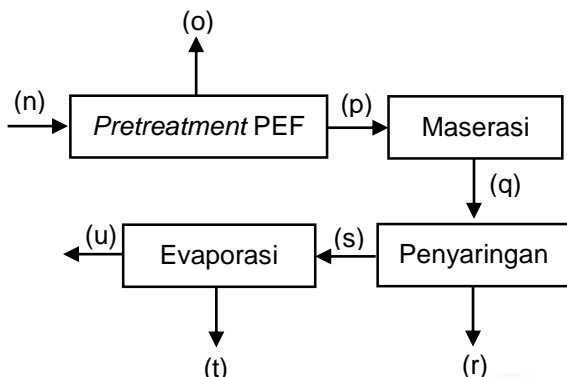


Gambar 3.3 Diagram Keseimbangan Massa pada Pembuatan Serbuk Daun Kemangi

Keterangan:

- V: kemangi sebelum sortasi (g)
- A: bagian-bagian kemangi yang tidak digunakan atau *reject* (g)
- B: daun kemangi yang lolos sortasi (berat bersih) (g)
- C: air pada proses pencucian (g)
- D: daun kemangi setelah pencucian (g)
- E: air yang menguap (g)
- F: daun kemangi layu (g)
- G: air yang menguap (g)
- H: daun kemangi kering (g)
- I: serbuk yang tertinggal pada blender (g)
- K: serbuk daun kemangi setelah dihancurkan dengan blender (g)
- L: serbuk yang tertinggal pada ayakan (g)
- M: serbuk daun kemangi berukuran 40 mesh (g)

Diagram keseimbangan massa pada proses ekstraksi daun kemangi dapat dilihat pada **Gambar 3.4**.



Gambar 3.4 Diagram Keseimbangan Massa pada Proses Ekstraksi Daun Kemangi

Keterangan:

N: serbuk daun kemangi dan pelarut aquades yang ditambahkan ke dalam *treatment chamber* (g)

O: sampel yang tertinggal pada PEF (g)

P: sampel setelah *pretreatment* PEF (g)

Q: sampel setelah maserasi (g)

R: ampas/residu (g)

S: sampel yang lolos penyaringan (filtrat) (g)

T: pelarut yang diuapkan (g)

U: ekstrak pekat (g)

3.5.5 Analisis Total Fenol

Kadar total fenol dalam ekstrak daun kemangi dianalisis berdasarkan metode *Folin-Ciocalteu* dengan asam galat sebagai standar. Jumlah senyawa fenol ditentukan dengan mengukur nilai absorbansi larutan sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 756 nm. Kandungan total fenol dinyatakan dalam mg GAE/g ekstrak. Prosedur analisis kadar total fenol dengan metode *Folin-Ciocalteu* dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

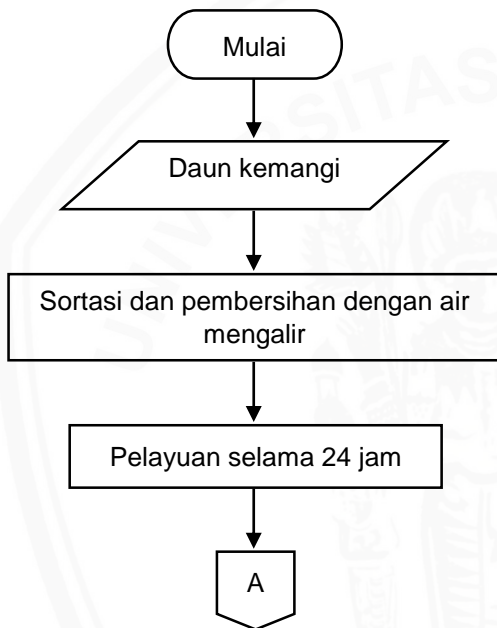
3.5.6 Analisis Total Flavonoid

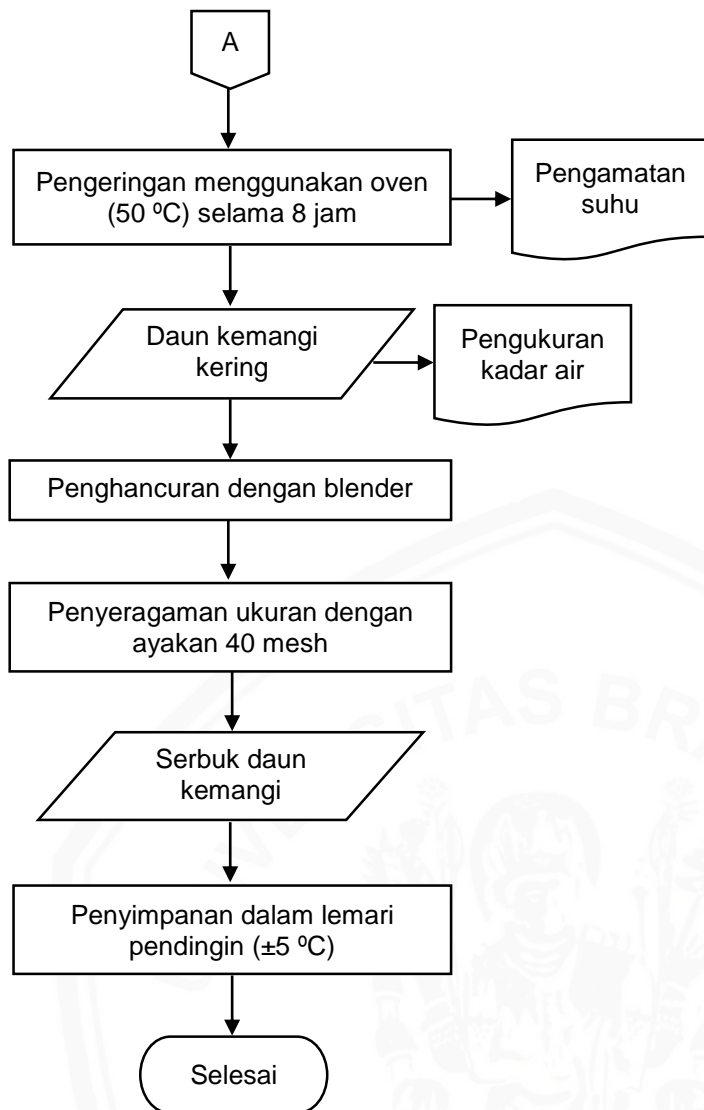
Kadar total flavonoid dalam ekstrak daun kemangi dianalisis berdasarkan metode kolorimetri menggunakan reagen alumunium klorida dan kuersetin sebagai standar. Jumlah senyawa flavonoid ditentukan dengan mengukur nilai absorbansi larutan sampel menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 502 nm. Spesifikasi Spektrofotometer UV-Vis yang digunakan dapat dilihat pada **Lampiran 15**. Kandungan flavonoid total direpresentasikan sebagai mg QE/g ekstrak. Prosedur analisis total flavonoid dengan metode kolorimetri dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

3.6 Diagram Alir Penelitian

3.6.1 Pembuatan Serbuk Daun Kemangi

Diagram alir pembuatan serbuk daun kemangi dapat dilihat pada **Gambar 3.5**.

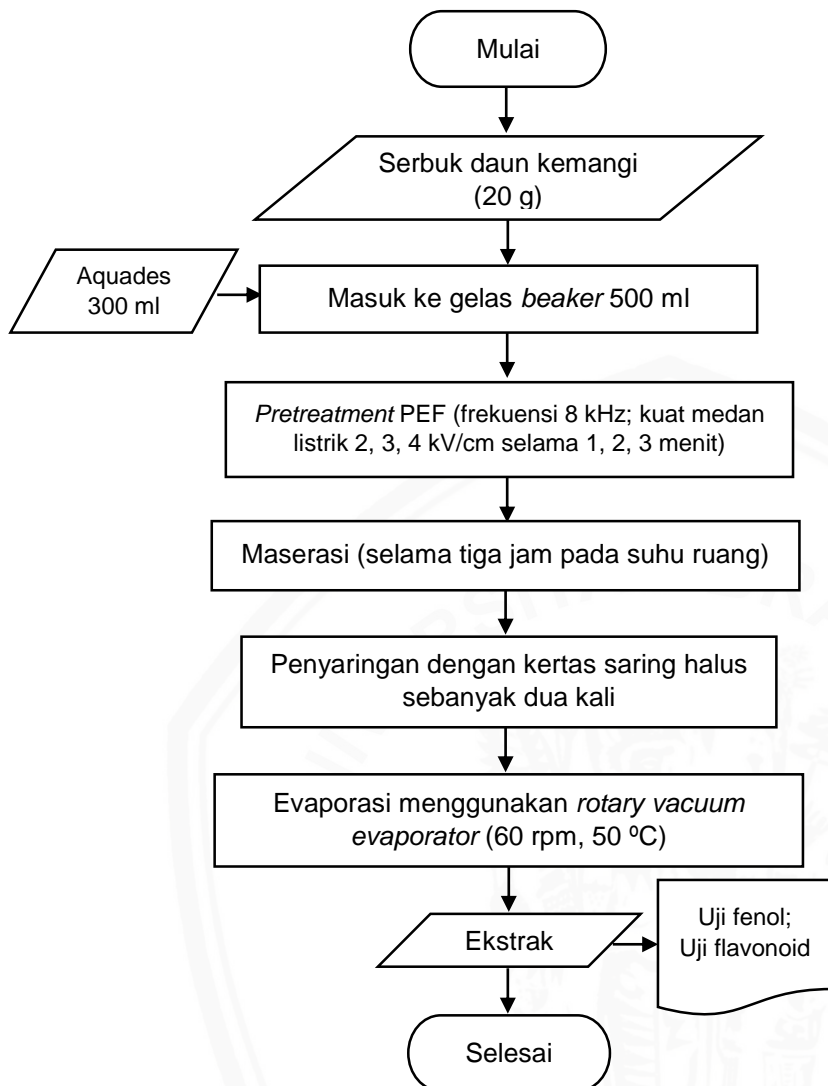




Gambar 3.5 Diagram Alir Pembuatan Serbuk Daun Kemangi

3.6.2 Proses Ekstraksi Daun Kemangi

Diagram alir proses ekstraksi daun kemangi dapat dilihat pada **Gambar 3.6**.



Gambar 3.6 Diagram Alir Proses Ekstraksi Daun Kemangi

3.7 Analisis Data

Data penelitian dianalisis dengan *Two-Way ANOVA (Analysis of Variance)* menggunakan program SPSS 20 untuk mengetahui pengaruh kuat medan listrik, durasi, dan interaksi kedua variabel tersebut terhadap rendemen, kadar total fenol, dan kadar total flavonoid. Hasil ANOVA dianalisis lebih lanjut (*Post Hoc Test*) menggunakan uji Tukey HSD dan Bonferroni pada taraf signifikansi (α) = 0,05.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Pembuatan Serbuk Daun Kemangi

Sebelum memasuki proses ekstraksi, daun kemangi disiapkan terlebih dahulu untuk melewati beberapa tahap seperti sortasi dan pengeringan. Pengeringan bertujuan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak dengan cara menguapkan sebagian air dalam bahan, sehingga bahan dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Pembuatan serbuk daun kemangi dibagi menjadi dua tahap utama, yaitu preparasi sampel dan proses pengeringan.

4.1.1 Preparasi Sampel Daun Kemangi

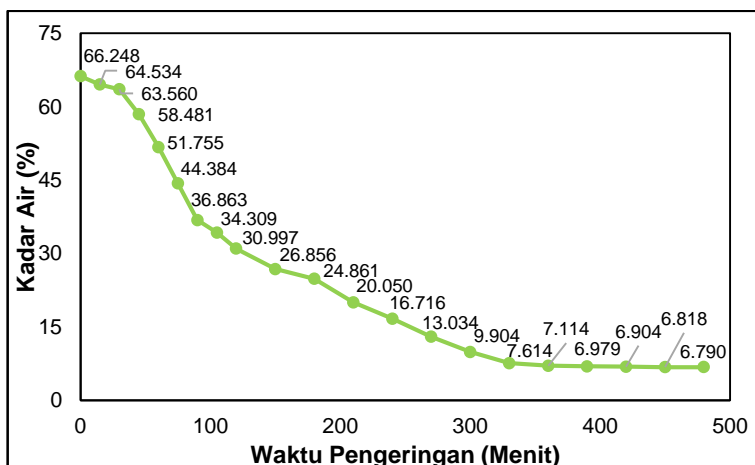
Kemangi sebanyak 4200 g disortasi dengan cara memisahkan daun kemangi segar dari batang dan bagian-bagian lainnya yang tidak diperlukan. Pada proses sortasi ini, terjadi penurunan massa sebanyak 2000,23 g, sehingga diperoleh 2199,77 g daun kemangi yang sesuai dengan kriteria yang ditentukan. Daun yang lolos sortasi, dibersihkan menggunakan air mengalir untuk menghilangkan sisa-sisa tanah atau bahan asing yang menempel. Pada tahap ini, massa daun kemangi meningkat menjadi 2271,88 g akibat penambahan air sebanyak 72,11 g.

4.1.2 Proses Pengeringan Daun Kemangi

Daun kemangi yang sudah dibersihkan, ditiriskan dengan cara diangin-anginkan selama 24 jam hingga daun menjadi layu. Proses pelayuan daun kemangi berlangsung di dalam ruangan dan terlindung dari sinar matahari. Tujuan pelayuan adalah mengurangi kadar air daun kemangi, sehingga daun kemangi tidak mudah busuk. Selama proses pelayuan, daun kemangi mengalami perubahan fisik yang ditandai dengan meleemasnya daun akibat penurunan kandungan air sebanyak 1283,23 g. Pada tahap ini diperoleh daun kemangi layu sebanyak 988,65 g.

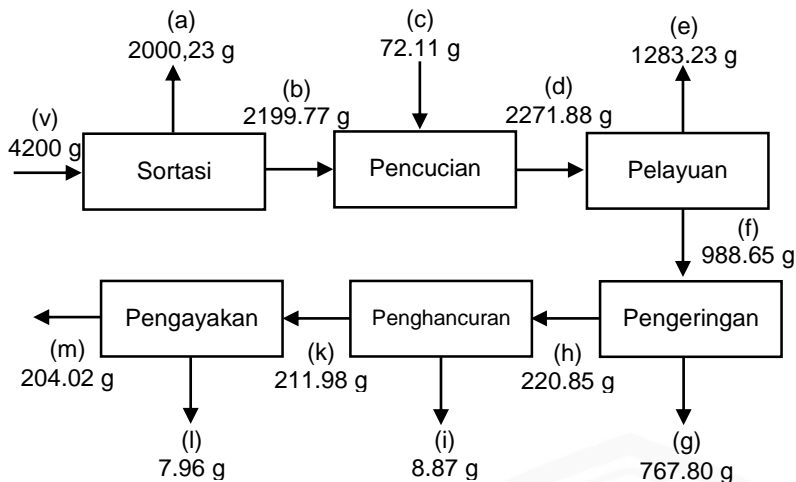
Daun kemangi layu dikeringkan menggunakan oven karena dapat mengurangi kandungan air dalam dalam waktu yang singkat serta kondisi pengeringannya dapat dikontrol. Pengeringan merupakan salah satu faktor penentu kualitas simplisia, sedangkan mutu simplisia mempengaruhi mutu ekstrak. Proses pengeringan daun kemangi layu dilakukan dengan pengaturan suhu 50 °C selama delapan jam. Untuk mencapai suhu 50 °C pada *display* oven, diperlukan waktu sekitar 24 menit dari suhu awal 25 °C. Setelah suhu *setting* tercapai, bahan dimasukkan ke dalam oven dan dilakukan pengamatan suhu setiap 15 menit hingga proses pengeringan selesai. Data hasil pengamatan menunjukkan bahwa suhu tertinggi yang dicapai adalah 54 °C dan suhu terendahnya 46 °C. Berdasarkan data hasil pengamatan suhu selama proses pengeringan daun kemangi pada **Lampiran 4**, diketahui bahwa pada praktiknya suhu pengeringan yang digunakan adalah $52,27 \pm 2,03$ °C.

Selain suhu pengeringan, mutu simplisia juga ditentukan oleh kadar air. Pengukuran kadar air dilakukan secara berkala hingga beratnya konstan dan kadar air simplisia telah mencapai kurang dari 10%. Dengan demikian, proses pengeringan dapat dihentikan karena reaksi enzimatik dalam sel tidak dapat berlangsung jika kadar air simplisia tidak melebihi 10% (Prasetyo & Inorih, 2013). Berdasarkan data hasil pengukuran kadar air pada **Lampiran 6**, daun kemangi layu memiliki rerata kadar air awal sebesar $66,248 \pm 3,347\%$. Seiring bertambahnya waktu pengeringan, massa bahan juga mengalami penurunan hingga mencapai kadar air akhir sebesar $6,790 \pm 0,052\%$. Kadar air simplisia daun kemangi yang diperoleh telah memenuhi persyaratan menurut parameter standar yang berlaku. Menurut Wahyuni dkk. (2014) enzim dapat mengubah kandungan kimia yang terkandung dalam simplisia. Namun, hal tersebut tidak terjadi jika bahan yang telah dikeringkan mempunyai kadar air rendah. Penurunan kadar air daun kemangi layu pada pengeringan menggunakan oven suhu 50 °C dapat dilihat pada **Gambar 4.1**.



Gambar 4.1 Penurunan Kadar Air Daun Kemangi Layu pada Pengeringan Menggunakan Oven (50 °C)

Setelah dikeringkan, sebanyak 767,80 g air menguap sehingga dari diperoleh daun kemangi kering sebanyak 220,85 g. Daun kemangi kering kemudian dihancurkan menggunakan blender hingga menjadi serbuk sebanyak 211,98 g, sedangkan 8,87 g sisanya merupakan massa bahan yang tertinggal pada blender. Kemudian, tahap terakhir pada pembuatan serbuk daun kemangi, yaitu penyeragaman ukuran menggunakan ayakan 40 mesh. Pada tahap ini, massa bahan berkurang sebanyak 7,96 g, sehingga didapatkan serbuk daun kemangi sebanyak 204,02 g. Diagram keseimbangan massa pada pembuatan serbuk daun kemangi dapat dilihat pada **Gambar 4.2**.



Gambar 4.2 Diagram Keseimbangan Massa pada Pembuatan Serbuk Daun Kemangi

4.2 Proses Ekstraksi Daun Kemangi

Proses ekstraksi daun kemangi dibagi menjadi tiga tahap utama, yaitu *pretreatment* menggunakan PEF, ekstraksi dengan metode maserasi, dan evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Bahan utama dalam proses ekstraksi ini adalah serbuk daun kemangi yang diperoleh dari tahap pengeringan sebelumnya dan aquades sebagai pelarut.

4.2.1 *Pretreatment* Menggunakan PEF

Proses *pretreatment* dalam penelitian ini dilakukan menggunakan metode non termal, yaitu PEF. Teknologi PEF memanfaatkan medan pulsa listrik tegangan tinggi (10-100 kV/cm) pada bahan yang diletakkan di antara dua elektroda dengan waktu yang singkat. PEF memiliki kelebihan dibandingkan metode *pretreatment* konvensional, yaitu mampu mempertahankan kandungan nutrisi bahan karena prosesnya tidak menimbulkan perubahan suhu yang

signifikan, durasi *treatment* lebih singkat, dan meningkatkan jumlah senyawa aktif keluar dari dalam sel. Pada penelitian ini, variasi yang digunakan adalah kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* PEF. Pemilihan variasi perlakuan PEF tersebut disesuaikan dengan spesifikasi alat yang digunakan dan didasarkan pada beberapa penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Segovia *et al.* (2015) bahwa indeks disintegrasi sel akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya kuat medan listrik dari 1, 3, dan 5 kV/cm, sedangkan peningkatan intensitas yang lebih tinggi dari 5 kV/cm menuju 7 kV/cm tidak dapat meningkatkan indeks disintegrasi sel. Bobinaite *et al.* (2017) menyatakan bahwa senyawa aktif yang diekstraksi dari ceri asam mengalami peningkatan pada intensitas medan listrik 1, 3, dan 5 kV/cm, dimana kadar fenol tertinggi diperoleh pada kuat medan listrik 5 kV/cm.

Hasil pengukuran suhu menggunakan termometer menunjukkan tidak terdapat perubahan suhu (27 °C) pada seluruh kombinasi perlakuan PEF. Hal ini sesuai dengan penelitian Putranto (2014) bahwa perlakuan PEF tidak terlalu berpengaruh terhadap suhu bahan. Kenaikan suhu yang terjadi sekitar 0,0037 °C dalam waktu 10 detik atau sebesar 0,0185 °C selama 50 detik. Perubahan suhu yang terjadi sangat rendah, sehingga diduga tidak dapat terukur oleh termometer. Menurut Zderic *et al.* (2013) PEF tidak menimbulkan perubahan suhu yang signifikan, dimana peningkatan suhu pada bagian dalam (*inlet*) dan luar (*outlet*) *treatment chamber* tidak melebihi 5 °C. Menurut penelitian Andriawan dan Susilo (2015) proses menggunakan PEF meningkatkan suhu sebesar 2-3 °C dan mencapai suhu maksimal 23 °C pada tegangan 49,48 kV. Namun, kenaikan suhu tersebut diduga akibat panas dari lingkungan yang terserap oleh bahan pada saat proses PEF berlangsung. Pada tahap ini, *input* sebanyak 320,82 g berkurang menjadi 7,25 g, sehingga diperoleh *output* sebanyak 313,57 g.

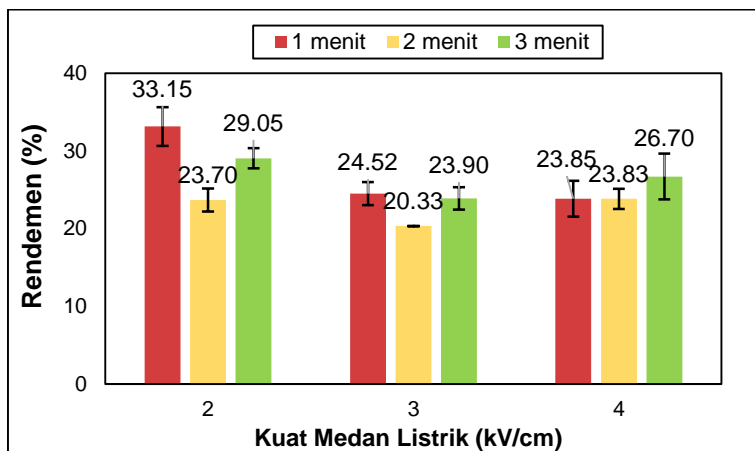
4.2.2 Proses Ekstraksi dengan Metode Maserasi

Selama maserasi berlangsung, botol maserasi digoyang-goyangkan secara manual setiap 30 menit dengan tujuan untuk mempermudah pelarut dalam melarutkan senyawa-senyawa aktif dan mempercepat tercapainya keseimbangan konsentrasi antara bagian dalam dan luar sel dari serbuk daun kemangi. Aquades dipilih sebagai pelarut karena bersifat polar, sehingga dapat melarutkan senyawa fenol dan flavonoid dengan baik. Hal ini dibuktikan dengan tingginya konstanta dielektrikum aquades (80,4). Selain itu, aquades termasuk pelarut yang tidak berbahaya dibandingkan dengan metanol dan aseton yang memiliki tingkat toksisitas lebih tinggi dari etanol (Alfarabi, 2010).

Berdasarkan data pengukuran suhu pada **Lampiran 5**, diketahui bahwa semua kombinasi perlakuan tidak mengalami perubahan suhu (27 °C) selama proses maserasi. Menurut Chandra (2015), metode maserasi dilakukan pada suhu ruang dan tidak menggunakan energi panas dalam prosesnya, sehingga dapat menjaga aktivitas senyawa aktif yang rentan terhadap suhu tinggi. Proses maserasi juga dilakukan dalam wadah tertutup, sehingga massa *input* dan *output* tidak mengalami penurunan atau peningkatan. Pada tahap ini, massa sampel sebelum dan setelah maserasi adalah 313,57 g. Setelah disaring, diperoleh filtrat 255,05 g dan residu sebanyak 58,52 g.

4.2.3 Evaporasi Menggunakan *Rotary Vacuum Evaporator*

Proses evaporasi bertujuan untuk mendapatkan ekstrak yang pekat dan cukup murni dengan cara menguapkan pelarut menggunakan *rotary vacuum evaporator*. Evaporasi dilakukan selama ± 37 menit pada suhu 50 °C dengan kecepatan putar labu evaporasi 60 rpm. Rendemen ekstrak dihitung dengan membandingkan massa ekstrak dengan massa awal serbuk daun kemangi. Selanjutnya, hasil perhitungan rendemen ekstrak pada **Lampiran 7** dapat dibuat grafik rerata rendemen ekstrak daun kemangi pada berbagai perlakuan PEF seperti pada **Gambar 4.3**.



Gambar 4.3 Rendemen Ekstrak Daun Kemangi dengan Perlakuan PEF

Gambar 4.3 menunjukkan bahwa rerata rendemen pada perlakuan 2 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit adalah 23,70-33,15% dengan rentang standar deviasi 1,472-2,484. Pada perlakuan 3 kV/cm dan durasi 1, 2, dan 3 menit diperoleh rerata rendemen 20,33-24,52% dengan rentang standar deviasi 0,029-1,487. Kemudian, pada perlakuan 4 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit diperoleh rerata rendemen 23,83-26,70% dengan rentang standar deviasi 1,297-2,948. Standar deviasi tertinggi diperoleh pada perlakuan 2 kV/cm selama 1 menit, sedangkan perlakuan kuat medan listrik 3 kV/cm selama 2 menit menghasilkan standar deviasi paling rendah. Standar deviasi yang tinggi menunjukkan bahwa data hasil pengulangan memiliki rentang variasi yang lebar, sedangkan standar deviasi yang rendah menunjukkan bahwa data yang diperoleh cenderung mendekati rata-rata.

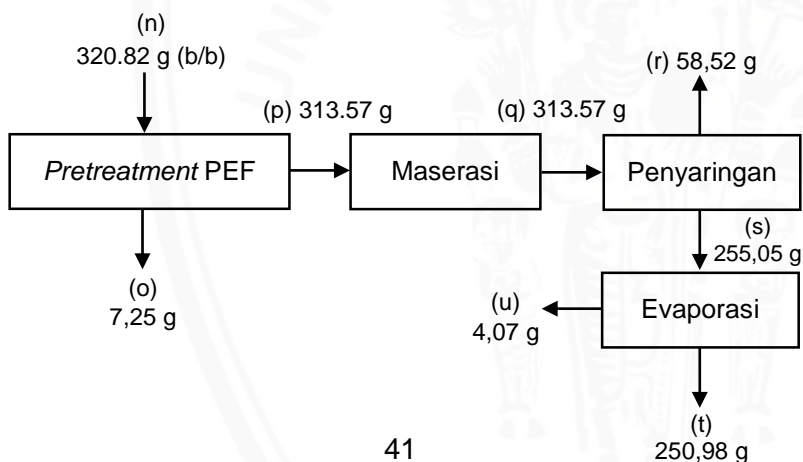
Berdasarkan hasil penelitian Shobirin (2016) rendemen sari apel meningkat dengan bertambahnya kuat medan listrik dan durasi yang diterapkan. Peningkatan kuat medan listrik dan durasi perlakuan menyebabkan terbentuknya pori-pori yang

bersifat *irreversible* pada membran sel. Pori-pori tersebut mengakibatkan cairan di dalam sel keluar, sehingga komponen-komponen yang terdapat dalam bahan ikut terlarut dengan mudah pada saat ekstraksi berlangsung. Pada penelitian tersebut, rendemen dihitung dengan membandingkan berat sari buah apel dengan berat apel. Rendemen tertinggi sebesar 77,73% diperoleh pada perlakuan 4 kV/cm selama 10 menit. Namun, pada penelitian ekstraksi daun kemangi yang dilakukan, nilai rendemen ekstrak mengalami tren peningkatan dan penurunan. Rerata rendemen yang diperoleh dari masing-masing variasi kuat medan listrik cenderung mengalami penurunan pada lama perlakuan 2 menit dan kembali meningkat pada perlakuan selama 3 menit. Menurut Widiyanto dan Siarudin (2013) perbedaan hasil rendemen ekstrak dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti bahan baku yang digunakan, lingkungan tempat bahan tumbuh, waktu pemetikan, dan penanganan bahan sebelum ekstraksi. Rendemen ekstrak daun kemangi tertinggi diperoleh dari kombinasi 2 kV/cm selama 1 menit, yaitu $33,15 \pm 2,484\%$, sedangkan rendemen terendah diperoleh pada perlakuan 3 kV/cm selama 2 menit, yaitu $20,33 \pm 0,029\%$. Hal ini diduga karena cukup banyak bahan yang tertinggal dalam *treatment chamber* PEF, sehingga mempengaruhi massa *input* untuk maserasi. Salah satu faktor yang berpengaruh dalam pengukuran rendemen ekstrak adalah adanya serbuk yang lolos dalam proses penyaringan dan ikut tertimbang di dalam ekstrak, sehingga mempengaruhi nilai rendemen yang dihasilkan (Putri, 2014).

Berdasarkan analisis statistik pada **Lampiran 16**, hasil uji homogenitas *Levene* menunjukkan varian data homogen ($\text{sig.} > 0,05$), sehingga analisis selanjutnya dapat dilakukan. Kemudian, pada hasil analisis sidik ragam diketahui bahwa kuat medan listrik, durasi, dan interaksi kedua variabel tersebut berpengaruh signifikan terhadap rendemen yang dihasilkan ($\text{sig.} < 0,05$). Untuk mengetahui variasi kuat medan listrik dan durasi mana saja yang berbeda secara signifikan terhadap nilai rendemen, maka dilakukan uji *post hoc* menggunakan Tukey HSD dan Bonferroni, dimana tanda bintang (*) dan sig.

$< 0,05$ menyatakan adanya perbedaan nilai rendemen yang nyata. Berdasarkan hal tersebut, maka terdapat perbedaan yang nyata antara kuat medan listrik 2 kV/cm dan 3 kV/cm serta perlakuan 2kV/cm dan 4 kV/cm (sig. $<0,05$), sedangkan pada kuat medan listrik 3 kV/cm dan 4 kV/cm tidak terdapat perbedaan nyata (sig. $> 0,05$). Hal ini diperkuat dengan hasil uji pada tabel *homogenous subsets*, dimana kuat medan listrik 2 kV/cm berada pada kolom yang berbeda dengan perlakuan 3 dan 4 kV/cm, artinya terdapat perbedaan signifikan antara perlakuan 2 kV/cm dengan dua variasi kuat medan listrik lainnya. Selanjutnya, pada variabel durasi *pretreatment*, terdapat perbedaan signifikan antara durasi 1 dan 2 menit serta durasi 2 dan 3 menit (sig. $< 0,05$), sedangkan tidak terdapat beda nyata antara durasi 1 dan 3 menit (sig. $> 0,05$). Begitu pula pada tabel *homogenous subsets*, dimana durasi *pretreatment* 1 dan 3 menit berada dalam *subset* yang berbeda dengan 2 menit, artinya terdapat perbedaan nilai rendemen yang signifikan antara *pretreatment* selama 2 menit dengan dua variasi durasi lainnya.

Pada tahap ini, massa *input* yang digunakan adalah 255,05 g. Hasil dari evaporasi berupa ekstrak pekat sebanyak 4 ml atau 4,07 g. Perhitungan keseimbangan massa pada proses ekstraksi dapat dilihat pada **Lampiran 8**. Diagram keseimbangan massa pada ekstraksi daun kemangi perlakuan 3 kV/cm selama 2 menit dapat dilihat pada **Gambar 4.4**.



Gambar 4.4 Diagram Keseimbangan Massa pada Proses Ekstraksi Daun Kemangi (3 kV/cm selama 2 menit)

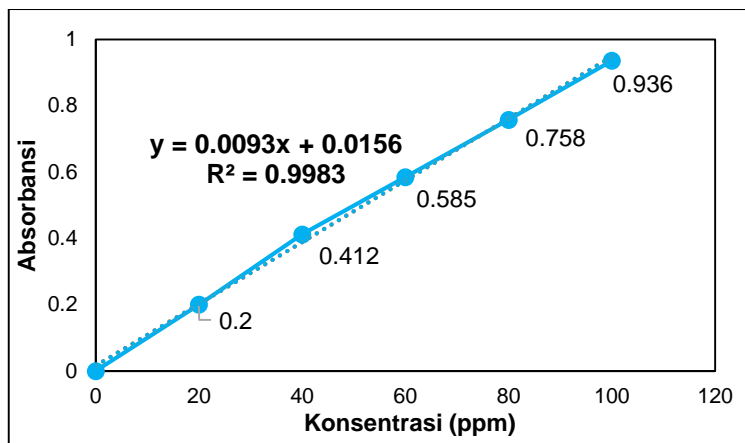
4.3 Pengujian Kadar Total Fenol dan Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi

Ekstrak pekat dari proses evaporasi sebelumnya digunakan untuk dua macam pengujian, yaitu uji total fenol dan total flavonoid. Sebelum dianalisis, ekstrak diencerkan terlebih dahulu. Pemilihan faktor pengenceran disesuaikan dengan tingkat kepekatan ekstrak yang diperoleh agar konsentrasi senyawa fenol dan flavonoid yang terdapat dalam sampel tidak terlalu pekat karena akan menimbulkan *over range* dalam pembacaan spektrofotometer.

4.3.1 Kadar Total Fenol Ekstrak Daun Kemangi

Senyawa fenol dapat bertindak sebagai antibakteri, yaitu senyawa yang mampu mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan bakteri oleh senyawa fenol dilakukan dengan cara membentuk ikatan hidrogen antara fenol dan protein sel. Ikatan hidrogen tersebut mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang terganggu menimbulkan ketidakseimbangan makromolekul dan ion, sehingga sel mengalami lisis (Carolia & Noventi, 2016).

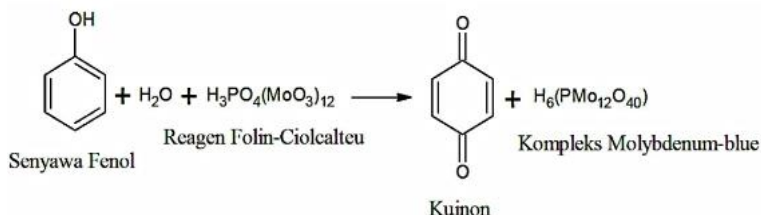
Penentuan kandungan fenolik total pada ekstrak daun kemangi diawali dengan pembuatan kurva standar dengan asam galat sebagai baku. Kurva standar asam galat yang diperoleh pada **Gambar 4.5** memiliki tingkat keakuratan yang baik berdasarkan nilai R^2 yang dihasilkan, yaitu 0,9983. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan kadar fenol ekstrak daun kemangi menggunakan data absorbansi.



Gambar 4.5 Kurva Standar Asam Galat

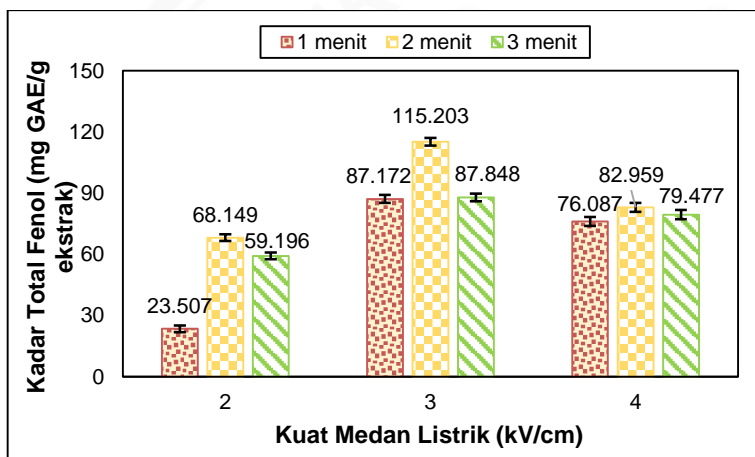
Kandungan total fenol dari ekstrak daun kemangi dianalisis secara kuantitatif berdasarkan metode Folin-Ciocalteu dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Metode ini didasarkan pada kemampuan sampel untuk mereduksi reagen Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu yang terdiri atas senyawa asam fosfomolibdat dan asam fosfotungstat akan bereaksi dengan senyawa fenol yang terkandung dalam ekstrak daun kemangi membentuk larutan berwarna yang dapat diukur absorbansinya. Pada saat reagen Folin-Ciocalteu ditambahkan ke dalam sampel yang telah diencerkan akan terjadi perubahan warna menjadi kuning. Senyawa fenol yang ada dalam sampel tersebut dapat bereaksi dalam suasana basa, dimana pada suasana basa terjadi disosiasi proton pada senyawa fenol menjadi ion fenolat. Fenolat hanya terdapat pada larutan basa, tetapi reagen Folin-Ciocalteu tidak stabil pada kondisi basa. Oleh karena itu, perlu ditambahkan larutan natrium karbonat untuk membentuk suasana basa agar terjadi reaksi reduksi Folin-Ciocalteu oleh gugus hidroksil dari senyawa fenol di dalam sampel. Penambahan basa pada sampel menimbulkan reaksi yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi biru. Perubahan warna tersebut disebabkan oleh gugus hidroksil dari senyawa fenol yang mereduksi asam heteropoli

(fosfomolibdat-fosfotungstat) dalam reagen Folin-Ciocalteu menjadi suatu kompleks molibdenum-tungsten yang berwarna biru. Semakin tinggi konsentrasi senyawa fenol dalam ekstrak, maka ion fenolat yang terbentuk juga semakin banyak, sehingga warna biru yang dihasilkan lebih pekat (Lester *et al.*, 2012). Reaksi pembentukan senyawa kompleks molibdenum-tungsten tersebut dapat dilihat pada **Gambar 4.6**.



Gambar 4.6 Reaksi Pembentukan Senyawa Kompleks Molibdenum-Tungsten

Menurut Hazar (2014) semakin pekat warna biru yang terbentuk, maka semakin tinggi nilai absorbansi sampel yang terukur. Data hasil analisis total fenol pada **Lampiran 10** dapat dibuat grafik kadar total fenol ekstrak daun kemangi dengan *pretreatment* PEF seperti pada **Gambar 4.7**.



Gambar 4.7 Kadar Total Fenol Ekstrak Daun Kemangi dengan Perlakuan Kuat Medan Listrik dan Durasi *Pretreatment* PEF

Pada **Gambar 4.7** menunjukkan kandungan total fenol pada kuat medan listrik 2 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit berkisar antara 23,507-68,149 mg GAE/g ekstrak dengan rentang standar deviasi 1,656-2,215. Pada kuat medan listrik 3 kV/cm dan durasi 1, 2, dan 3 menit diperoleh rata-rata kadar total fenol sebesar 87,172-115,203 mg GAE/g ekstrak dengan rentang standar deviasi 0,274-1,115, sedangkan perlakuan 4 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit menghasilkan kadar total fenol antara 76,087-82,959 mg GAE/g ekstrak dan rentang standar deviasi 0,844-1,891. Berdasarkan hasil tersebut, kadar total fenol tertinggi sebesar $115,203 \pm 1,115$ mg GAE/g ekstrak diperoleh dari perlakuan kuat medan listrik 3 kV/cm selama 2 menit, sedangkan kadar total fenol paling rendah, yaitu $23,507 \pm 1,656$ mg GAE/g ekstrak diperoleh pada perlakuan 2 kV/cm selama 1 menit.

Kadar total fenol yang dihasilkan dari ketiga variasi kuat medan listrik tersebut memiliki tren yang sama, yaitu meningkat pada durasi 2 menit dan menurun saat dilakukan *pretreatment* selama 3 menit. Hal ini membuktikan bahwa pada penelitian ini, durasi optimum PEF adalah 2 menit, sehingga penambahan melebihi durasi tersebut tidak dapat meningkatkan kadar total fenol ekstrak daun kemangi. Menurut Izza dkk. (2016) kadar senyawa antioksidan yang diekstrak akan meningkat dan mencapai maksimal sampai pada durasi tertentu. Setelah melewati waktu optimum, kadar senyawa antioksidan mengalami penurunan. Penurunan kadar tersebut diduga karena senyawa antioksidan mengalami kerusakan akibat terlalu lama terpapar pada aliran listrik bertegangan tinggi. Hal ini didukung oleh Alberts *et al.* (2002) bahwa pemilihan durasi PEF yang tepat dapat mempengaruhi perubahan struktur sel. Semakin lama durasi PEF berarti semakin besar kemungkinan terjadinya kerusakan membran sitoplasma sel hingga membentuk pori-pori *irreversible* akibat terpapar pada pulsa tegangan tinggi dalam jangka panjang.

Pada perlakuan 2 kV/cm, kadar total fenol yang dihasilkan lebih rendah dibandingkan perlakuan 3 kV/cm. Ketika sel biologis dipaparkan pada medan listrik, muatan akan menumpuk di sepanjang membran plasma, sebagai hasilnya,

timbul perbedaan potensial transmembran pada sel yang menyebabkan porositas. Peningkatan potensial transmembran tersebut akan mengakibatkan kebocoran pada membran sel. Pada medan listrik yang lebih rendah diduga pori-pori yang terbentuk jauh lebih kecil, sehingga memungkinkan ion untuk melewati pori, tetapi molekul yang berukuran besar tidak dapat keluar dari dalam sel. Pada intensitas medan listrik yang lebih tinggi, dalam hal ini perlakuan 3 kV/cm, terjadi ruptur membran yang bersifat *irreversible* dan terbentuk pori-pori yang lebih lebar pada membran sel (Ersus *et al.*, 2010; Frey *et al.*, 2006). Namun, ketika diberikan kuat medan listrik yang lebih tinggi, yaitu 4 kV/cm, kandungan total fenol semakin menurun. Hal ini menunjukkan bahwa kuat medan listrik 3 kV/cm merupakan titik optimum dalam *pretreatment* PEF pada penelitian ini. Menurut Telisa (2016) penurunan kadar senyawa aktif tersebut diduga karena kuat medan listrik yang diterapkan melebihi medan kritis dari sel, sehingga menyebabkan terbentuknya pori-pori permanen. Pada saat membran sel bersifat *irreversible*, perpindahan massa dari dalam ke luar sel akan semakin cepat. Perpindahan massa ini membawa sejumlah senyawa termasuk fenol terlepas dari membran sel, sehingga senyawa tersebut menjadi bebas dalam pelarut dan memungkinkan untuk terjadi oksidasi yang disebabkan oleh oksigen.

4.3.2 Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Kadar Total Fenol

Berdasarkan hasil analisis statistik pada **Lampiran 17**, hasil uji homogenitas *Levene* menunjukkan varian data homogen (sig. > 0,05), sehingga analisis berikutnya dapat dilakukan. Hasil analisis sidik ragam dua jalur menunjukkan bahwa variabel kuat medan listrik, durasi, dan interaksi kedua variabel tersebut berpengaruh signifikan terhadap kadar total fenol yang dihasilkan (sig. < 0,05). Karena terdapat pengaruh signifikan, maka dilakukan analisis lebih lanjut (*Post Hoc Test*) menggunakan Tukey HSD dan Bonferroni untuk mengetahui variasi kuat medan listrik dan durasi mana saja yang berbeda

secara signifikan terhadap kadar fenol. Perbedaan tersebut ditunjukkan dengan tanda bintang (*) dan nilai sig. < 0,05. Berdasarkan hal tersebut, maka diketahui terdapat perbedaan yang nyata pada seluruh variasi kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm). Hal ini diperkuat dengan hasil uji pada tabel *homogenous subsets*, dimana ketiga variasi kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm) berada pada *subset* yang berbeda, artinya ketiga variasi tersebut memiliki perbedaan rata-rata kadar fenol yang nyata dengan lainnya. Begitu pula pada variabel durasi *pretreatment*, terdapat perbedaan yang signifikan pada seluruh variasi (1, 2, dan 3 menit). Hal ini juga diperkuat dengan hasil *homogenous subsets*, dimana ketiga durasi terletak pada kolom *subset* berbeda, artinya terdapat perbedaan yang signifikan antara tiga variasi durasi tersebut.

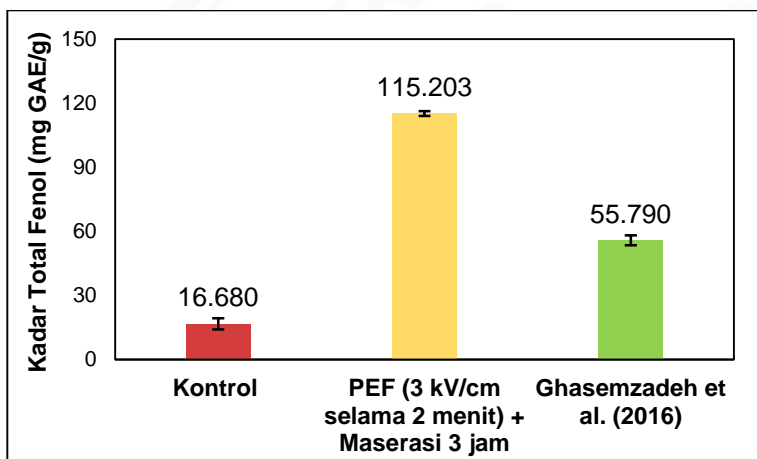
4.3.3 Perbandingan dengan Perlakuan Kontrol dan Metode Ekstraksi Lain

Pada penelitian ini, perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan pada kadar total fenol tertinggi yang merupakan faktor penentu kualitas ekstrak daun kemangi. Berdasarkan hasil penelitian, kadar fenol tertinggi diperoleh dari kombinasi perlakuan 3 kV/cm dan durasi *pretreatment* 2 menit, yaitu $115,203 \pm 1,115$ mg GAE/g ekstrak. Perlakuan terbaik ini kemudian dibandingkan dengan hasil perlakuan kontrol dan metode ekstraksi lain yang dilakukan oleh Ghasemzadeh *et al.* (2016). Perbandingan ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh metode yang digunakan terhadap jumlah senyawa fenol yang dihasilkan.

Sampel kontrol pada penelitian ini diperoleh dari ekstraksi konvensional, yaitu maserasi. Bahan yang digunakan adalah serbuk daun kemangi 20 g dengan pelarut aquades 300 ml. Maserasi berlangsung selama 3 jam pada suhu ruang. Kadar senyawa fenol diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 756 nm. Penentuan kadar fenol ditentukan berdasarkan metode Folin-Ciocalteu. Perlakuan kontrol menghasilkan kadar total fenol $16,680 \pm 2,653$ mg GAE/g ekstrak. Kadar fenol tersebut dinilai rendah karena

metode maserasi memiliki kelemahan seperti proses penyariannya yang kurang sempurna.

Ghasemzadeh *et al.* (2016) melakukan ekstraksi daun kemangi dengan sinar UV-B sebagai *pretreatment*. Daun kemangi yang digunakan, dipanen 4 bulan setelah tanam dan diberi perlakuan menggunakan sinar UV-B. Metode *pretreatment* dilakukan dengan meletakkan daun kemangi secara berdampingan, kemudian diradiasi di bawah sinar UV-B dalam suatu *chamber* pada kelembaban tetap (90%). Radiasi UV-B dilakukan pada intensitas penyinaran $3,60 \text{ W/m}^2$ dan durasi yang berbeda, yaitu 4, 6, 8, dan 10 jam. Sampel diekstraksi menggunakan etanol 95% dengan metode refluks selama dua jam pada suhu 65°C . Hasil ekstraksi disaring menggunakan kertas saring Whatman No. 1 dan pelarut diuapkan menggunakan *rotary evaporator*. Kadar total fenol ditentukan berdasarkan metode Folin-Ciocalteu menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 765 nm. Pada penelitian ini perlakuan terbaik terdapat pada intensitas penyinaran $3,60 \text{ W/m}^2$ selama 8 jam yang menghasilkan total fenol sebanyak $55,79 \pm 2,31 \text{ mg GAE/g}$. Perbandingan kadar total fenol dengan berbagai perlakuan dapat dilihat pada **Gambar 4.8**.



Gambar 4.8 Perbandingan Kadar Total Fenol Ekstrak Daun Kemangi dengan Berbagai Perlakuan

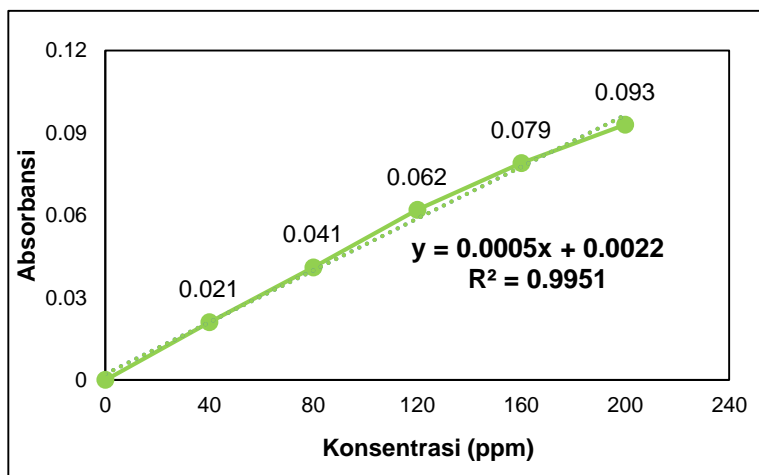
Berdasarkan **Gambar 4.8** dapat dilihat bahwa total fenol yang diperoleh dari *pretreatment* menggunakan PEF dan maserasi selama tiga jam merupakan perlakuan yang menghasilkan kadar tertinggi dibandingkan dengan perlakuan kontrol dan *pretreatment* radiasi UV-B. Perbedaan kadar total fenol tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya jenis pelarut, metode ekstraksi, *pretreatment*, metode analisis, dan perbedaan bahan baku yang diperoleh meliputi lokasi tumbuh, waktu panen, dan penanganan bahan pasca panen. Pada penelitian ini, PEF digunakan sebagai perlakuan pendahuluan sebelum maserasi. Penggunaan PEF sebagai *pretreatment* memiliki beberapa kelebihan, yaitu prosesnya tidak menimbulkan perubahan suhu yang signifikan, durasi *pretreatment* berlangsung lebih singkat, dan meningkatkan laju difusi produk keluar dari jaringan tanaman. Peningkatan produk tersebut disebabkan karena paparan medan listrik bertegangan tinggi pada dinding sel biologis yang menimbulkan suatu fenomena yang disebut elektroporasi. Proses elektroporasi mengakibatkan terjadinya pergeseran muatan pada atom atau molekul, dimana molekul yang bermuatan positif akan bergeser ke arah elektroda negatif dan sebaliknya, sehingga terbentuk dipol. Pergeseran muatan tersebut akan meningkatkan potensial transmembran yang menyebabkan menipisnya membran sel. Peningkatan potensial transmembran yang melebihi ambang kritis memungkinkan terjadinya kerusakan membran sel, sehingga terbentuk pori-pori *reversible* atau *irreversible* yang mempermudah senyawa-senyawa di dalam sel untuk keluar menuju eksternal (Ravishankar *et al.*, 2015).

4.3.4 Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi

Di dalam tubuh, salah satu penyebab utama terjadinya kerusakan oksidatif disebabkan oleh senyawa oksidan yang berupa radikal bebas atau oksigen reaktif. Rendahnya kadar antioksidan yang diproduksi oleh tubuh sehingga tidak dapat mengimbangi reaktivitas senyawa oksidan juga dapat memicu kerusakan oksidatif. Untuk mengatasi dampak negatif

tersebut, maka diperlukan senyawa flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan dengan mendonorkan hidrogen atau melepaskan satu elektronnya pada senyawa oksidan, sehingga aktivitas senyawa oksidan dapat dihambat (Pereira *et al.*, 2009; Sayuti & Yenrina, 2015).

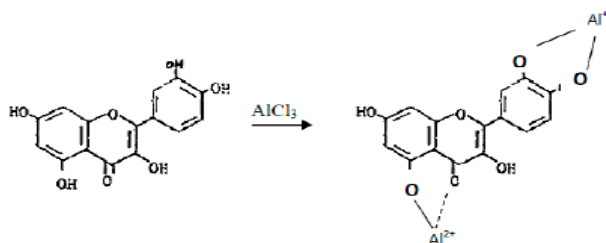
Kurva standar kuersetin pada **Gambar 4.9** menunjukkan persamaan yang baik berdasarkan nilai R^2 mendekati 1. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan kadar total flavonoid ekstrak daun kemangi menggunakan data absorbansi.



Gambar 4.9 Kurva Standar Kuersetin

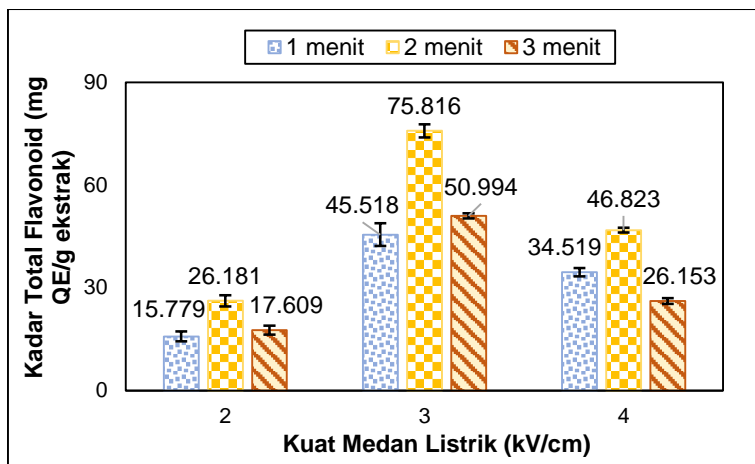
Kandungan total flavonoid ditentukan menurut metode kolorimetri dengan aluminium klorida sebagai pereaksi dan spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk mengukur absorbansi dari larutan sampel. Prinsip penetapan kadar total flavonoid berdasarkan metode kolorimetri dengan aluminium klorida adalah terbentuknya senyawa kompleks antara aluminium klorida dengan gugus keto pada atom C-4 dan gugus hidroksi pada atom C-3 atau C-5 yang bertetangga dari golongan flavon dan flavonol dalam ekstrak. Metode ini dapat digunakan untuk menentukan jumlah senyawa flavonoid golongan flavon dan flavonol (Desmiaty dkk., 2009).

Penambahan alumunium klorida ke dalam ekstrak pekat yang telah diencerkan akan menimbulkan reaksi antara flavonoid dengan alumunium klorida, sehingga terbentuk senyawa kompleks berwarna kuning. Adanya senyawa flavonoid dalam larutan sampel ditunjukkan dengan terbentuknya senyawa kompleks berwarna merah muda setelah penambahan NaOH. Intensitas warna yang pekat menunjukkan kadar flavonoid yang lebih tinggi. Pembentukan senyawa kompleks yang berwarna merah muda tersebut dapat diukur absorbansinya pada panjang gelombang 502 nm. Adapun reaksi pembentukan senyawa kompleks oleh kuersetin (golongan flavonoid) dan pereaksi alumunium klorida dapat dilihat pada **Gambar 4.10**.



Gambar 4.10 Reaksi Pembentukan Senyawa kompleks oleh Kuersetin dan Pereaksi Alumunium Klorida

Berdasarkan data analisis total flavonoid pada **Lampiran 11**, dapat dibuat grafik kadar total flavonoid ekstrak daun kemangi dengan perlakuan kuat medan listrik dan durasi *pretreatment* menggunakan PEF seperti pada **Gambar 4.11**.



Gambar 4.11 Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi dengan Perlakuan Kuat Medan Listrik dan Durasi *Pretreatment* PEF

Gambar 4.11 menunjukkan kadar total flavonoid pada kuat medan listrik 2 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit berkisar antara 15,779-26,181 mg QE/g ekstrak dengan rentang standar deviasi 0,801-1,637. Pada perlakuan 3 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit diperoleh kadar total flavonoid antara 46,556-75,411 mg QE/g ekstrak dengan standar deviasi 0,719-1,592. Pada kuat medan listrik 4 kV/cm selama 1, 2, dan 3 menit diperoleh rerata kadar total flavonoid 26,153-47,422 mg QE/g ekstrak dengan rentang standar deviasi 0,783-1,187. Kadar total flavonoid tertinggi sebesar $75,816 \pm 0,723$ mg QE/g ekstrak terdapat pada kombinasi perlakuan 3 kV/cm selama 2 menit.

Berdasarkan data yang diperoleh, perlakuan 2, 3, dan 4 kV/cm memiliki tren yang sama yaitu kadar flavonoid meningkat pada *pretreatment* selama 2 menit dan menurun pada durasi 3 menit. Demikian pula, pada perlakuan kuat medan listrik, dimana terjadi peningkatan kadar senyawa flavonoid pada 3 kV/cm, kemudian mengalami penurunan pada kuat medan listrik 4 kV/cm. Hal ini menunjukkan bahwa durasi PEF selama 2 menit dan kuat medan listrik 3 kV/cm merupakan titik optimum untuk *pretreatment* daun kemangi, sehingga penambahan nilai kedua variabel tersebut tidak dapat meningkatkan kadar flavonoid. Menurut Izza dkk. (2016)

durasi pemaparan yang terlalu panjang dan melebihi titik optimum dapat mengakibatkan rusaknya senyawa aktif. Kerusakan senyawa aktif tersebut diduga akibat reaksi oksidasi pada senyawa flavonoid, dimana flavonoid merupakan turunan senyawa fenol yang bersifat mudah teroksidasi. Reaksi oksidasi ini dapat terjadi akibat adanya oksigen yang berasal dari udara dan ditandai dengan penurunan jumlah senyawa flavonoid. Kadar total flavonoid yang diperoleh berbanding lurus dengan kadar total fenol ekstrak daun kemangi. Hal ini karena senyawa flavonoid merupakan salah satu golongan terbesar yang menyusun senyawa fenol. Pada penelitian ini, kadar total fenol dan total flavonoid tertinggi didapatkan pada perlakuan kuat medan listrik 3 kV/cm dalam waktu 2 menit.

4.3.5 Analisis Sidik Ragam (ANOVA) Kadar Total Flavonoid

Berdasarkan hasil uji homogenitas *Levene* pada **Lampiran 18**, diketahui bahwa varian data homogen ($\text{sig.} > 0,05$), sehingga persyaratan untuk analisis selanjutnya terpenuhi. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa kuat medan listrik, durasi *pretreatment*, dan interaksi kedua variabel tersebut berpengaruh signifikan terhadap kadar total flavonoid ($\text{sig.} < 0,05$). Karena terdapat pengaruh nyata, maka analisis dilanjutkan (*Post Hoc Test*) menggunakan Tukey HSD dan Bonferroni untuk mengetahui variasi kuat medan listrik dan durasi mana yang berbeda secara nyata terhadap kadar flavonoid, dimana tanda bintang (*) dan nilai $\text{sig.} < 0,05$ menyatakan adanya perbedaan kadar flavonoid yang signifikan. Dengan demikian, dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan signifikan pada seluruh variasi kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm). Hal tersebut diperkuat dengan hasil uji pada tabel *homogenous subsets* yang menunjukkan ketiga variasi kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm) berada pada *subset* yang berbeda, artinya ketiga variasi tersebut memiliki perbedaan rata-rata kadar flavonoid yang nyata satu dengan lainnya. Begitu pula, pada variabel durasi *pretreatment*, terdapat

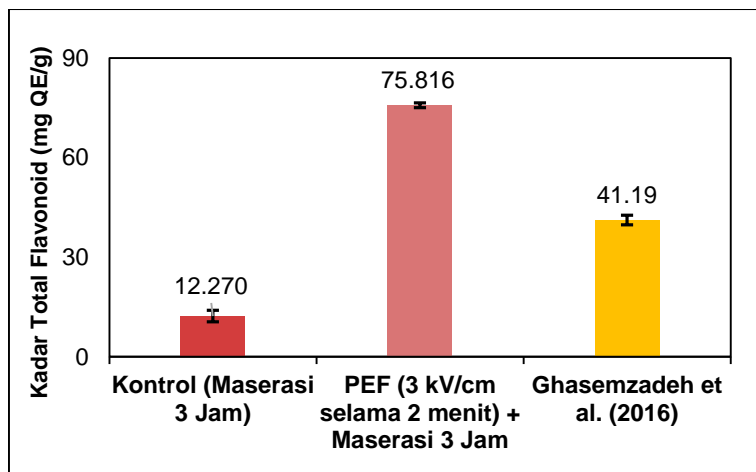
perbedaan signifikan antara durasi 1 dan 2 menit serta durasi 2 dan 3 menit (sig. < 0,05). Hal ini juga ditunjukkan pada tabel *homogenous subsets*, dimana *pretreatment* selama 1 dan 3 menit terletak pada kolom *subset* yang sama, namun beda kolom dengan durasi 2 menit, artinya terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan antara variasi 2 menit dengan durasi *pretreatment* 1 dan 3 menit.

4.3.6 Perbandingan dengan Perlakuan Kontrol dan Metode Ekstraksi Lain

Kadar flavonoid merupakan salah faktor penentu utama dari kualitas ekstrak daun kemangi pada penelitian ini. Oleh karena itu, perlakuan terbaik ditentukan berdasarkan pada kadar flavonoid tertinggi yang diperoleh dari kombinasi perlakuan kuat medan listrik 3 kV/cm dan durasi PEF 2 menit, yaitu $75,816 \pm 0,723$ mg QE/g ekstrak. Perlakuan terbaik ini dibandingkan dengan sampel perlakuan kontrol dan metode ekstraksi dari penelitian yang dilakukan oleh Ghasemzadeh *et al.* (2016).

Sampel perlakuan kontrol diperoleh melalui maserasi selama 3 jam dengan menggunakan pelarut aquades. Ekstrak pekat yang didapatkan dari proses evaporasi, selanjutnya diukur absorbansinya berdasarkan metode kolorimetri pada panjang gelombang 502 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kadar total flavonoid dari sampel kontrol, yaitu $12,270 \pm 1,746$ mg QE/g ekstrak.

Pada penelitian Ghasemzadeh *et al.* (2016) kadar flavonoid $41,19 \pm 1,460$ mg QE/g diperoleh melalui metode *pretreatment* radiasi UV-B terhadap daun kemangi segar pada intensitas penyinaran $3,60 \text{ W/m}^2$ dalam waktu 8 jam. Pengukuran absorbansi sampel dilakukan pada panjang gelombang 510 nm. Grafik perbandingan kadar total flavonoid ekstrak daun kemangi dengan berbagai perlakuan dapat dilihat pada **Gambar 4.12**.



Gambar 4.12 Perbandingan Kadar Total Flavonoid Ekstrak Daun Kemangi dengan Berbagai Perlakuan

Pada **Gambar 4.12** dapat diketahui kombinasi PEF dan maserasi selama tiga jam mampu menghasilkan kadar total flavonoid paling maksimum dibandingkan perlakuan kontrol dan kombinasi penyinaran UV-B dengan refluks. Metode maserasi sesuai untuk mengekstraksi senyawa flavonoid yang peka terhadap suhu tinggi, karena maserasi merupakan metode yang tidak memanfaatkan energi panas dalam prosesnya, sedangkan PEF dinilai efektif dalam meningkatkan jumlah senyawa flavonoid keluar dari dalam sel. *Pretreatment* PEF memanfaatkan medan listrik bertegangan tinggi untuk membentuk lubang pada membran sel, dimana intensitas medan listrik yang diterapkan berbanding lurus dengan perbedaan potensial yang melintasi membran sel. Jika potensial transmembran tersebut melebihi ambang batas, maka terjadi permeabilitas membran (elektropermeabilisasi) yang mengarah pada pembentukan pori-pori sementara atau permanen. Dengan demikian, proses PEF membantu pelepasan senyawa dari dalam sel tanpa adanya peningkatan suhu yang signifikan (Alessandro & Carciochi, 2018). Adapun beberapa faktor yang dapat mempengaruhi perbedaan kadar flavonoid yang dari ketiga metode tersebut, yaitu bahan baku

meliputi tempat tumbuh, penyimpanan, usia petik, jenis pelarut, metode ekstraksi dan *pretreatment*, metode penentuan kadar flavonoid, dan perlakuan awal seperti metode pengeringan menggunakan oven, diangin-anginkan, *freeze drying*, dan sinar matahari langsung.

V. PENUTUP

1.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut.

1. Variasi kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm) dan durasi *pretreatment* (1, 2, dan 3 menit) serta interaksi kedua variabel tersebut berpengaruh signifikan terhadap kadar total fenol. Kadar fenol tertinggi ($115,203 \pm 1,115$ mg GAE/g ekstrak) diperoleh pada kombinasi 3 kV/cm selama 2 menit.
2. Variasi kuat medan listrik (2, 3, dan 4 kV/cm) dan durasi *pretreatment* (1, 2, dan 3 menit) serta interaksi kedua variabel berpengaruh signifikan terhadap kadar total flavonoid. Kadar flavonoid tertinggi ($75,816 \pm 0,723$ mg QE/g ekstrak) diperoleh pada kombinasi 3 kV/cm selama 2 menit.
3. Pada proses pengeringan daun kemangi, diperoleh 204,02 g serbuk daun kemangi, sedangkan ekstraksi daun kemangi menghasilkan ekstrak pekat sebanyak 4,07 g.

1.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian dengan penambahan metode pemisahan antara ekstrak dengan pelarut agar diperoleh ekstrak yang murni (tanpa pelarut).
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari ekstrak daun kemangi dengan *pretreatment* PEF.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui titik optimum dari faktor-faktor yang digunakan dengan menggunakan metode *Response Surface Methodology* (RSM).

DAFTAR PUSTAKA

- Aina, R. Q. 2015. **Aplikasi Pra-Perlakuan *Microwave Assisted Extraction* (MAE) pada Ekstrak Daun Kemangi Menggunakan Rotary Evaporator (Variasi Suhu dan Waktu Ekstraksi)**. Skripsi. Universitas Brawijaya. Malang
- Alberts, B., A. Johnson, J. Lewis, M. Raff, K. Roberts, and P. Walter. 2002. **Molecular Biology of the Cell**. New York: Garland Science
- Alessandro, L. G. and R. A. Carciochi. 2018. **Fermentation Assisted by Pulsed Electric Field and Ultrasound**. *Fermentation* 4(1): 1-12
- Alfarabi, Muhammad. 2010. **Kajian Antidiabetogenik Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) In Vitro**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Andarwulan, N., R. Batari, D. A. Sandrasari, B. Bolling, dan H. Wijaya. 2010. **Flavonoid Content and Antioxidant Activity of Vegetables from Indonesia**. *Journal of Food Chemistry* 121: 1231-1235
- Andriawan, V. dan B. Susilo. 2015. **Susu Listrik Alat Pasteurisasi Susu Kejut Listrik Tegangan Tinggi (*Pulsed Electric Field*) Menggunakan Transformator Tegangan Tinggi dan Inverter**. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem* 3(2): 199-210
- Apak, R., K. Güclü, B. Demirata, M. Özyürek, S. E. Çelik, B. Bektasoglu, K. I. Berker, and D. Özyürt. 2007. **Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay**. *Molecules* 12(7): 1496-1547
- Arifin, Roni. 2016. **Bisnis Hidroponik ala Roni Kebun Sayur**. Jakarta: Agromedia Pustaka
- Atanassova, M., S. Georgieva, and K. Ivancheva. 2011. **Total Phenolic and Total Flavonoid Contents, Antioxidant Capacity, and Biological Contaminants in Medicinal Herbs**. *Journal of the University of Chemical Technology and Metallurgy* 46(1): 81-88

- Batari, Ratna. 2007. **Identifikasi Senyawa Flavonoid pada Sayuran Indigeneous Jawa Barat**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Bobinaite, R., G. Pataro, M. Visockis, C. Bobinas, G. Ferrari, and P. Viskelis. 2017. **Potential Application of Pulsed Electric Fields to Improve the Recovery of Bioactive Compounds from Sour Cherries and Their By-Products**. Foodbalt: 70-74
- Carolia, N. dan W. Noventi. 2016. **Potensi Ekstrak Daun Sirih Hijau**. Majority 5(1):1-6
- Chandra, Andy. 2015. **Studi Awal Ekstraksi Batch Daun Stevia Rebaudiana dengan Variabel Jenis Pelarut dan Temperatur Ekstraksi**. Prosiding Seminar Nasional Biodiversitas Indonesia 1(1): 114-119
- Delta, Dian. 2014. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol dan Kloroform Batang dan Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.)**. Skripsi. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta
- Desmiaty, Y., J. Ratnawati, dan P. Andini. 2009. **Penentuan Jumlah Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Buah Merah (*Pandanus conoideus* Lamk)**. Seminar Nasional POKJANAS TOI XXXVI. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta
- Doloksaribu, Rianto. 2009. **Isolasi Senyawa Flavonoid dari Daun Tumbuhan Harimonting (*Rhodomyrtus tomentosa* W. Ait.)**. Skripsi. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Ersus, S. M., M. H. Oztot, M.J. McCarthy, and D. M. Barrett. 2010. **Disintegration Efficiency of Pulsed Electric Field Induced Effects on Onion (*Allium cepa* L.) Tissues as a Function of Pulse Protocol and Determination of Cell Integrity by 1H-NMR Relaxometry**. Journal of Food Science 75(7): 444-453
- Ervin, L., A. Malik, dan A. Najib. 2016. **Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) dengan Menggunakan Metode DPPH**. Jurnal Fitofarmaka Indonesia 3(2): 164-169
- Frey, W., J. A. White, R. O. Price, and P. F. Blackmore. 2006. **Plasma Membrane Voltage Changes during Nanosecond PEF Exposure**. Biophysical Journal 90: 3608-3615

- Ghasemzadeh, A., S. Ashkani, A. Baghdadi, A. Pazoki, H. Z. E. Jaafar, and A. Rahmat. 2016. **Improvement in Flavonoids and Phenolic Acids Production and Pharmaceutical Quality of Sweet Basil by Ultraviolet-B Irradiation.** *Molecules* 21: 1-15
- Hazar, Siti. 2014. **Ekstraksi Komponen Bioaktif dan Aktivitas Antioksidan Daun Lindur (*Bruguiera gymnorrhiza*).** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Indrawati, N. L. dan Razimin. 2013. **Bawang Dayak Si Umbi Ajaib Penakluk Aneka Penyakit.** Jakarta: Agromedia Pustaka
- Integrated Taxonomic Information System. 2011. ***Ocimum tenuiflorum* L.** Diakses pada 10 November 2017. < https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topi c=TSN&search_value=517628#null>
- Izza, N., S. R. Dewi, A. W. Putranto, D. R. Yuner, dan M. Y. S. Dachi. 2016. **Ekstraksi Senyawa Fenol Daun Kenikir (*Cosmos caudatus*) dengan Pulsed Electric Field (PEF).** *Jurnal Teknologi Pertanian* 17(2):91-96
- Kaurinovic, B., M. Popovic, S. Vlaisavljevic, and S. Trivic. 2011. **Antioxidant Capacity of *Ocimum basilicum* L. and *Origanum vulgare* L. Extracts.** *Molecules* 16: 7401-7413
- Kristijarti, A. P. dan A. Arlene. 2012. **Isolasi Zat Warna Ungu pada *Ipomoea batatas* Poir dengan Pelarut Air.** LPPM Universitas Katolik Parahyangan. Bandung
- Kumesan, E. C., E. V. Pandey, dan H. J. Lohoo. 2017. **Analisa Total Bakteri, Kadar Air, dan pH pada Rumput Laut (*Kappaphycus alvarezii*).** *Jurnal Media Teknologi Hasil Perikanan* 5(1):124-130
- Kurniawati, Nia. 2010. **Sehat dan Cantik Alami Berkat Khasiat Bumbu Dapur.** Bandung: Qanita
- Lee, K. W., Y. J. Kim, H. J. Lee, and C. Y. Lee. 2003. **Cocoa Has More Phenolic Phytochemicals and a Higher Antioxidant Capacity than Teas and Red Wine.** *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 7292-7295
- Lester, G. E., K. S. Lewers, M. B. Medina, R. A. Saftner. 2012. **Comparative Analysis of Strawberry Total Phenolics via Fast Blue BB vs Folin-Ciocalteu: Assay Interference**

- by Ascorbic Acid.** Journal of Food Composition and Analysis 27: 102-107
- Luengo, E., I. Alvarez, and J. Raso. 2013. **Improving the Pressing Extraction on Polyphenols of Orange Peels by Pulsed Electric Fields.** Journal of Innovative Food Science and Emerging Technologies 17: 79-84
- Mardiana, L. dan F. R. Paimin. 2012. **Ramuan Tradisional.** Jakarta: Penebar Swadaya
- Mariska, Ika. 2013. **Metabolit Sekunder: Jalur Pembentukan dan Kegunaannya.** Diakses tanggal 26 Mei 2017 <<http://biogen.litbang.deptan.go.id/index.php/2013/08/metabolit-sekunder-jalur-pembentukan-dan-kegunaannya/>>
- Mohamed, M. E. A. and A. H. A. Eissa. 2012. **Pulsed Electric Fields for Food Processing Technology.** Diakses tanggal 14 November 2017. <<https://www.intechopen.com/books/structure-and-function-of-food-engineering>>
- Mokoginta, E. P., M. R. J. Runtuwene, dan F. Wehantouw. 2013. **Pengaruh Metode Ekstraksi terhadap Aktivitas Penangkal Radikal Bebas Ekstrak Metanol Kulit Biji Pinang Yaki (*Areca vestiaria* Giseke).** Jurnal Ilmiah Farmasi 2(4): 2302-2493
- Nuraini, A. D. 2007. **Ekstraksi Komponen Antibakteri dan Antioksidan dari Biji Teratai (*Nymphaea pubescens* Wild).** Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Nurhaeni, F., Trilestari, S. Wahyuono, dan A. Rohman. 2014. **Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Berbagai Jenis Sayuran serta Penentuan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Totalnya.** Jurnal Media Farmasi 11(2): 167-178
- Palhares, R. M., M. G. Drummond, B. S. A. F. Brasil, and G. P. Cosenza. 2015. **Medicinal Plants Recommended by the World Health Organization.** Plos One: doi/10.1371/journal.pone.0127866
- Pereira, D.M., P. Valentao, J. A. Pereira, and P. B. Andrade. 2009. **Phenolics: From Chemistry to Biology.** Molecules 14: 2202-2211
- Prabantini, Dwi. 2010. **A to Z Makanan Pendamping ASI.** Yogyakarta: ANDI

- Prasetyo dan E. Inorih. 2013. **Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-Obatan (Bahan Simplisia)**. Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB
- Prasetyo, S., H. Sunjaya, dan Y. Yanuar. 2012. **Pengaruh Rasio Massa Pelarut, Temperatur, dan Jenis Pelarut pada Ekstraksi Klorofil Daun Suji Secara Batch**. LPPM Universitas Katolik Parahyangan. Bandung
- Putranto, A. W. 2014. **Rancang Bangun dan Optimasi Total Karoten Jus Wortel (*Daucus carota* L.) Menggunakan Pulsed Electric Field Sistem Batch**. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang
- Putri, D. Alvicha. 2014. **Pengaruh Metode Ekstraksi dan Konsentrasi terhadap Aktivitas Jahe Merah (*Zingiber officinale*) sebagai Antibakteri *Escherichia coli***. Skripsi. Universitas Bengkulu. Bengkulu
- Ravishankar, S., H. Zhang, and M. L. Kempkes. 2015. **Pulsed Electric Fields**. Food Sci. Tech. Int. 14(5):429-432
- Redha, Abdi. 2010. **Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis**. Jurnal Belian 9(2): 196-202
- Saifudin, Azis. 2014. **Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian**. Yogyakarta: Deepublish
- Saleh, Eman M. 2012. **Antioxidant Effect of Aqueous Extract of Propolis on Hepatotoxicity Induced by Octylphenol in Male Rats**. Acta Toxicol 20(2): 68-81
- Sayuti, K. dan R. Yenrina. 2015. **Antioksidan, Alami dan Sintetik**. Padang: Andalas University Press
- Segovia, F. J., E. Luengo, J. J. Corral-Perez, J. Raso, and M. P. Almajano. 2015. **Improvements in the Aqueous Extraction of Polyphenols from Borago (*Borago officinalis* L.) Leaves by Pulsed Electric Fields: Pulsed Electric Fields (PEF) Applications**. Journal of Industrial Crops and Products 65:390-396
- Setiawan, D., B. D. Argo, dan S. H. Sumarlan. 2014. **Rancang Bangun Pulsed Electric Field Sistem Batch dengan Konfigurasi Elektroda Berjenis Co-Axial**. Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem 2(2):104-109

- Shamsi, K. and F. Sherkat. 2009. **Application of Pulsed Electric Field in Non-Thermal Processing of Milk**. Asian Journal of Food and Agro-Industry 2(3): 216-244
- Shobirin, A. 2016. **Aplikasi Pulsed Electric Field (PEF) sebagai Pretreatment pada Ekstraksi Buah Apel Varietas Fuji**. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Siemer, C., S. Toepfl, and V. Heinz. 2012. **Mass Transport Improvement by PEF – Applications in the Area of Extraction and Distillation**. Diakses pada 14 November 2017. < <http://cdn.intechopen.com/pdfs/33762.pdf>>
- Stiani, S. N., R. Rumanthir, dan S. Megawati. 2015. **Formulasi Salep Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) sebagai Antifungsi dengan Variasi Tipe Basis Salep dan Evaluasi Sifat Fisiknya**. Farmagazine 2(1): 1-5
- Telisa, Imelda. 2016. **Upaya Peningkatan Karoten Jus Wortel (*Daucus carota* L.) dengan Blansing dan Pulsed Electric Field (PEF) Sistem Batch**. Tesis. Universitas Brawijaya. Malang
- USDA National Nutrient Database for Standard Reference. 2016. **Basil Fresh**. Diakses pada 12 Desember 2017. <<https://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/293>>
- Vito, F. D. 2006. **Application of Pulsed Electric Field (PEF) Techniques in Food Processing**. Thesis. University of Salerno. Fisciano
- Wahyuni, R., Guswandi, dan H. Rivai. 2014. **Pengaruh Cara Pengeringan dengan Oven, Kering Angin, dan Cahaya Matahari Langsung terhadap Mutu Siplisia Herba Sambiloto**. Jurnal Farmasi Higea 6(2): 126-133
- Widiyanto, A. dan M. Siarudin. 2013. **Karakteristik Daun dan Rendemen Minyak Atsiri Lima Jenis Tumbuhan Kayu Putih**. Jurnal Penelitian Hasil Hutam 31(4): 235-241
- Zderic, A., E. Zondervan, and J. Meuldijk. 2013. **Breakage of Cellular Tissur by Pulsed Electric Field Extraction of Polyphenols from Fresh Tea Leaves**. Chemistry Engineering 32: 1795-1800

